

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**“OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA:
CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO”**

Autor:

Miguel Ángel Molina Gutiérrez

Directores:

Dra. Isabel Polanco Allué

Dra. Beatriz García Cuartero

Año 2017

AGRADECIMIENTOS

A mis directoras de tesis, la Dra. M^a Isabel Polanco y la Dra. Beatriz García-Cuartero, por el apoyo y ayuda que me han dado para llevar este barco a buen puerto.

A Rosario Madero, por su ayuda a la hora de realizar el análisis estadístico de este trabajo.

A la Dra. Carmen Prior, que me enseñó a traducir el idioma oculto de las mutaciones en el ADN.

A Manuel y Carmen, para que cuando en un futuro lean estas líneas sepan el motivo por el que sus padres durante unos meses les intercambiaron por una pantalla de ordenador.

A Eva, por ayudarme a encontrar las palabras justas y adecuadas cuando más las necesitaba.

Me gustaría que mi padre estuviera hoy aquí para poderle dedicar en persona este trabajo, pero sé que allá desde el cielo donde se encuentra, se alegra de que otro Molina haya terminado su tesis doctoral.

Y por último, a la persona que debería haber encabezado este trabajo, alguien que antepuso el cuidado de su familia y sus pacientes de cristal a los artículos científicos... quiero dedicar esta tesis a la Dra. Pilar Gutiérrez Díez...mi madre.

“ Hazlo o no lo hagas, pero no lo intentes”

(Maestro Yoda)

ÍNDICE

ÍNDICE	7
RESUMEN: “OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA: CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO”	11
ABSTRACT: OSTEOGENESIS IMPERFECTA: CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE	12
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	13
1.1.- BREVES ANTECEDENTES	13
1.2.- HISTORIA DE LA ENFERMEDAD	14
1.3.- TEJIDO CONJUNTIVO	16
1.3.1.- CÉLULAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO	17
1.3.2.- FIBRAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO	17
1.3.3.- SUSTANCIA FUNDAMENTAL	18
1.4.- COLÁGENO	18
1.4.1.- CLASIFICACIÓN	18
1.4.2.- ESTRUCTURA MOLECULAR DEL COLÁGENO	19
1.4.3.- BIOSÍNTESIS DEL COLÁGENO	21
1.5.- BIOSÍNTESIS Y DESTRUCCIÓN DEL TEJIDO ÓSEO	27
1.5.1.- PRIMERA FASE: ACTIVACION Y RECLUTAMIENTO DEL OSTEOCLASTO	27
1.5.2.- SEGUNDA FASE: RESORCIÓN ÓSEA	30
1.5.3.- TERCERA FASE: FORMACIÓN ÓSEA	31
1.5.4.- MECANISMO BIOQUÍMICO DE LA MINERALIZACIÓN ÓSEA	33
1.6.-BIOMARCADORES REMODELADO ÓSEO	34
1.6.1.-MARCADORES DE FORMACIÓN ÓSEA	34
1.6.2.- MARCADORES DE DESTRUCCIÓN ÓSEA	37
1.7.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	39
1.8.- CLASIFICACIÓN DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	41
1.8.1.-CLASIFICACIÓN CLÁSICA: SILLENCE 1979	41

1.8.2.-AMPLIACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN CLÁSICA: OI TIPOS V Y VI	42
1.8.3.- NUEVAS VARIANTES DE OI: FORMAS AUTOSÓMICAS RECESIVAS	43
1.8.4.- CLASIFICACIÓN INCDS DE LOS SÍNDROMES DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	44
1.8.5.- CLASIFICACIONES BASADAS EN LA VÍA MOLECULAR IMPLICADA	45
1.9.-GENÉTICA Y FORMAS CLÍNICAS DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	46
1.9.1.- FORMAS AUTOSÓMICO DOMINANTES DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	46
1.9.2.- FORMAS CLÍNICAS DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA DE TIPO AUTOSÓMICO DOMINANTE	48
1.9.3.- FORMAS AUTOSÓMICO RECESIVAS DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	53
1.10.- TRATAMIENTO DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA	61
1.10.1.- CIRUGÍA ORTOPÉDICA.....	62
1.10.2.- REHABILITACIÓN Y TERAPIA FÍSICA	63
1.10.3.- TRATAMIENTO MÉDICO	64
CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	71
2.1.- HIPÓTESIS	71
2.2.- OBJETIVO PRINCIPAL.....	71
2.3.- OBJETIVOS SECUNDARIOS	71
CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	73
3.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO	73
3.2.- POBLACIÓN ESTUDIADA.....	73
3.2.1.- TAMAÑO DE LA MUESTRA	73
3.2.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN	73
3.2.3.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	73
3.3.- PROTOCOLO DE ESTUDIO	74
3.3.1.- EVALUACIÓN DE LAS ALTERACIONES ANALÍTICAS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO TRAS LA INFUSIÓN IV DE PAMIDRONATO..	74
3.3.2.- ESTUDIO GENÉTICO	76
3.3.3.- CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN EL MOMENTO DE LA CONSECUCIÓN DE LA TALLA FINAL	76

3.4.- METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	77
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	79
4.1.- RESULTADOS GENERALES	79
4.2.- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	80
4.2.1.-NACIONALIDAD.....	80
4.2.2.- DISTRIBUCIÓN POR SEXO	80
4.2.3.- ANTECEDENTES FAMILIARES DE OI.....	80
4.3.- ESTUDIO GENÉTICO	81
4.3.1.- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES EN <i>COL1A1</i>	81
4.3.2.- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES EN <i>COL1A2</i>	82
4.4.- ESTUDIO DE LA RELACIÓN METABOLISMO FOSFOCÁLCICO Y GENOTIPO	83
4.4.1.- TRATAMIENTO CON PAMIDRONATO.....	83
4.4.2.- ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN <i>COL1A1</i> : 13 PACIENTES.....	83
4.4.3.- ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN <i>COL1A2</i> : 10 PACIENTES.....	87
4.4.4.- COMPARACIÓN DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO ENTRE EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN <i>COL1A1</i> Y <i>COL1A2</i>	89
4.5.- CORRELACIÓN GENOTIPO FENOTIPO	90
4.5.1.- TIPO DE MUTACIÓN Y FORMA CLÍNICA DE OI.....	90
4.5.2.- ANTECEDENTES PRENATALES	90
4.5.3.- RASGOS FÍSICOS DE OI: DENTINOGÉNESIS, FACIES Y ESCLERAS.....	93
4.5.4.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS EXTRAÓSEAS: HIPOACUSIA Y ALTERACIONES CARDIACAS.....	93
4.5.5.- ANÁLISIS DE LAS FRACTURAS	94
4.5.6.- ALTERACIONES ÓSEAS ASOCIADAS: ESCOLIOSIS Y MALFORMACIÓN DE LA BASE DE CRÁNEO	96
4.5.7.- DENSIDAD MINERAL ÓSEA AL ALTA.....	96
4.5.8.- ANÁLISIS DE LA TALLA FINAL	97
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN.....	100
5.1.- CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO.....	100

5.2.- METABOLISMO FOSFOCÁLCICO	104
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....	109
CAPÍTULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
CAPÍTULO 8. ANEXOS.....	125
8.1.- ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	125
8.2.- ÍNDICE DE TABLAS	125
8.3.- LISTA DE ABREVIATURAS	126

RESUMEN: “OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA: CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO”

INTRODUCCIÓN

La osteogénesis imperfecta (OI) es heterogéneo desorden hereditario del tejido conectivo caracterizado por baja densidad mineral ósea y predisposición a las fracturas. La mayoría los casos de OI están producidos por mutaciones en los genes codificantes de las cadenas $\alpha 1$ y $\alpha 2$ del colágeno tipo I (*COL1A1* y *COL1A2* respectivamente).

MÉTODOS

Estudio descriptivo, observacional y retrospectivo. Hemos analizado los cambios en los biomarcadores analíticos de resorción ósea observados tras la infusión intravenosa de pamidronato en pacientes con OI portadores de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, así como de la correlación entre el fenotipo y el tipo de mutación que padecen tras alcanzar su talla final.

RESULTADOS

Se seleccionaron en total 23 pacientes (12 hombres y 11 mujeres). Fueron identificadas 23 mutaciones, 12 de ellas de novo (8 en *COL1A1* y 4 en *COL1A2*).

Hemos observado un descenso en los valores de β -CTX tras la administración del ciclo con pamidronato, encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar el descenso de β -CTX observado en el grupo de pacientes portadores de mutación en *COL1A2* con los pacientes del grupo *COL1A1* sin codón de parada ($p=0,02$). No se encontraron diferencias significativas en los cambios observados pre y post tratamiento de los cocientes urinarios de Ca/Cr y P/Cr.

Observamos asociaciones significativas entre el genotipo y fenotipo: *COL1A1* sin codón de parada/ facies triangular, *COL1A1* con codón de parada/escleras azules y *COL1A2*/ escleras blancas.

Finalmente, hemos encontrado diferencias significativas entre la talla final de los pacientes con mutaciones en *COL1A2* y con haploinsuficiencia del gen *COL1A1* y los del grupo sin codón de parada en *COL1A1*.

CONCLUSIÓN

Con independencia del tipo de mutación, el β -CTX es un marcador eficaz del efecto antirresortivo del pamidronato. Existe asociación entre la talla final alcanzada por nuestros pacientes y su tipo de mutación. De entre todas las manifestaciones típicas de OI, únicamente encontramos correlación significativa entre el genotipo y la coloración en las escleras y la facies triangular.

ABSTRACT: OSTEOGENESIS IMPERFECTA: CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE

INTRODUCTION

Osteogenesis imperfecta (OI) is a heterogeneous heritable connective tissue disorder characterized by low bone density and vulnerability to fractures. Mutations in the genes encoding the $\alpha 1$ or $\alpha 2$ chains of type I procollagen (*COL1A1* and *COL1A2*, respectively) account for most cases of OI.

METHODS

This is a retrospective observational study. We have analyzed the changes in analytical biomarkers of bone resorption observed after intravenous infusion of pamidronate in patients with OI *COL1A1*/*COL1A2* mutations, as well as phenotype-genotype correlation after reaching final height.

RESULTS

We have observed a decrease in β -CTX levels after pamidronate administration. We found differences in β -CTX decrease in *COL1A2* group compared to *COL1A1* group without stop codon ($p=0,02$). No significant differences were observed in pre/post treatment urinary Ca/Cr and P/Cr ratio.

Significant genotype-phenotype correlations were observed: *COL1A1* without stop codon/ triangular facies, *COL1A1* stop codon/ blue sclera and *COL1A2*/ white sclerae.

Finally we found significant differences between final height in *COL1A2*/ haploinsufficiency *COL1A1* patients and non codon stop *COL1A1* group.

CONCLUSION

β -CTX is an effective biomarker of pamidronate antiresorptive effect, regardless of the type of mutation. There is an association between final height reached by our patients and their type of mutation. Among all the typical OI manifestations, we only found significant genotype-phenotype correlations with triangular facies and blue sclerae.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1.- BREVES ANTECEDENTES

La osteogénesis imperfecta (OI) o “enfermedad de los huesos de cristal” engloba un conjunto de enfermedades hereditarias producidas por un desorden heterogéneo del tejido conectivo que afecta a la producción del colágeno, principalmente del tipo 1 (responsable de la resistencia ósea, elasticidad de la piel y tendones) que se traduce en una fragilidad ósea responsable de sus deformidades y fracturas frecuentes.

Es la enfermedad hereditaria asociada a fragilidad ósea más frecuente de la infancia¹, con una prevalencia estimada entre 1 de cada 10000 a 20000 nacimientos. Se desconoce el número real de afectados. Afecta por igual a ambos sexos, razas y grupos étnicos.

Desde hace casi tres décadas sabemos que el 90% de los casos se debe a mutaciones autosómicas dominantes en uno de los dos genes que codifican las cadenas alfa de la molécula del colágeno tipo I (*COL1A1* y *COL1A2*)². El 10% restante se deben a mutaciones autosómicas recesivas o bien son de causa desconocida.

Presenta una amplia expresividad clínica, desde formas leves con huesos casi rectos y muy pocas fracturas a formas graves incluso letales. Esta variabilidad clínica se da incluso dentro de los afectados de una misma familia y por lo tanto con la misma mutación. Es por ello, por lo que desde el punto de vista clínico podemos clasificar a los pacientes en leves, moderados y graves.

El tratamiento de la OI se fundamenta en dos pilares fundamentales:

- Tratamiento médico: basado en el empleo de fármacos que buscan mejorar la calidad del hueso gracias al incremento de la densidad mineral ósea (DMO) a través de fármacos inhibidores de la resorción ósea (bifosfonatos).
- Tratamiento quirúrgico/rehabilitador: corrección de deformidades óseas y tratamiento de sus fracturas.

No obstante el manejo clínico de la OI es multidisciplinar, participando todo un abanico de especialistas encargados de cada una de las distintas manifestaciones clínicas que componen el complejo fenotipo de esta enfermedad: Otorrinolaringólogos (sordera),

odontólogos (dentinogénesis), cardiólogo (problemas valvulares cardiacos), neumólogo (problemas restrictivos pulmonares) etc.

Los avances en el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad obtenidos gracias al descubrimiento de nuevos defectos genéticos asociados a la OI, han permitido el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas que se perfilan como futuras alternativas al empleo de los bifosfonatos: Denosumab (antireabsortivo óseo utilizado en las OI tipo VI), Odanacatic (Inhibidor del enzima Catepsina K) o los inhibidores de la esclerostina aún en fase de investigación.

1.2.- HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

La OI es una enfermedad documentada desde la antigüedad, la referencia más temprana que tenemos de la misma, probablemente se remonta al año 1000 a. de C. en base a los hallazgos compatibles con osteogénesis encontrados en los restos momificados de un niño egipcio³.

En la cultura nórdica se menciona al caudillo escandinavo Ivar Ragnarsson, también conocido como Ivar el Deshuesado, especulando que fuera posible que padeciera la enfermedad al encontrarse citas que hablaban de sus piernas de cartílago (falta de huesos) que le incapacitaban para caminar, y por ello debía ser transportado encima de un escudo.

La primera descripción científica de la OI se remonta a 1751. Muys⁴ describe un recién nacido (RN) con múltiples fracturas en las cuatro extremidades, procedente de un parto y embarazo normal.

En 1788 el cirujano sueco Olaus Jakob Ekman, en su tesis doctoral describió una familia en la que existían tres generaciones sucesivas de casos de fragilidad ósea^{5,6}, denominando a esta entidad “osteomalacia congénita”.

En 1831, Edmund Axmann describió en sí mismo y en sus dos hermanos la extraña condición que padecían desde la infancia: fracturas frecuentes sin traumatismo previo, hiperlaxitud articular y escleras azuladas.

En 1833 Jean Lobstein⁷, ginecólogo y patólogo de la Universidad de Estrasburgo, en el volumen II de su obra "*Traité d'anatomie pathologique*" habla de la "

osteosathyrosis idiopática", describiendo 3 niños de una misma familia con múltiples fracturas y a una mujer anciana que presentó 23 fracturas en 30 meses.

En 1849 Willem Vrolik (1801–1863) profesor holandés del Ilustre Ateneo de Amsterdam, fue el primero en introducir el término latino “osteogénesis imperfecta”⁸ en su publicación sobre embriogénesis “Tabulae ad illustrandam embryogenesis hominis et mammalium, naturalem tam abnormem”. Así mismo Vrolik fue uno de los primeros en sugerir que el origen de muchas displasias óseas era “intrínseco al individuo” y no el resultado de un desorden adquirido tal y como muchos de sus contemporáneos defendían.

Posteriormente la enfermedad fue conocida con distintos nombres: "Síndrome de las escleróticas azules" (Eddowes en 1900)," Distrofia periostal" (Porak-Durante) ó " Síndrome de Van Der Hoeve" en 1917 (asociación de huesos frágiles, en combinación con escleróticas azules y sordera temprana como un síndrome hereditario distinto).

La primera clasificación de la enfermedad fue propuesta por Looser⁹ (1906), quien dividió la osteogénesis en: formas congénitas (más graves) y formas tardías o tardas. Sin embargo en 1949 el mismo establece que no hay base histológica para sustentar esta clasificación; lo que ya reseñaba en 1897 Martin Benno Schmidt: las formas tardías y las del RN eran la misma enfermedad.

En 1949 Seedorf¹⁰ la clasifica en:

1. OI congénita, tipo I ó Enfermedad de Vrolik
2. OI tarda: que a su vez la subdivide en 2 subtipos:
 - Tipo gravis, tipo II ó Enfermedad de Ekman-Lobstein, cuando la primera fractura se produce al nacer o en el primer año de vida.
 - Tipo levis ó tipo III cuando las fracturas aparecen después del primer año de vida y las deformidades son menores.

En 1979 el australiano Sillence¹¹ en su trabajo “*Genetic Heterogeneity in Osteogenesis Imperfecta*”, desarrolló un nuevo sistema de clasificación de la enfermedad que ha mantenido su vigencia hasta la actualidad. Tras estudiar un total de

180 pacientes y teniendo en cuenta tanto sus manifestaciones clínicas como el patrón de herencia clasificó la enfermedad en cuatro grupos (I-IV).

En 1974, Teitelbaum y colaboradores¹², empleando técnicas de microscopía electrónica, describen por primera vez anomalías en la agregación del colágeno óseo en tres pacientes con osteogénesis imperfecta.

En 1977, Sykes y colaboradores¹³ encuentran alteraciones en dos tipos de colágeno provenientes de piel de pacientes con osteogénesis.

En 1983, Chu y colaboradores¹⁴ describen por primera vez la alteración genética asociada a un paciente con OI. Se trató de una delección de 0,5 kb en uno de los dos alelos del gen *COL1A1* que codifica la cadena pro- α 1 de la molécula del colágeno tipo I. Este hallazgo marcó el inicio del proceso de entendimiento de la biosíntesis del colágeno tipo I así como los mecanismos patogénicos de la osteogénesis.

No fue hasta el año 2006 cuando se consiguió identificar el primer gen asociado a una OI autosómica recesiva (gen *CRTAP*) en un paciente con OI tipo II (Barnes y colaboradores, 2006)¹⁵.

En la actualidad se han identificado un total de 17 genes asociados a OI, y este número probablemente irá en aumento a medida que se amplíen nuestros conocimientos de la enfermedad. Sin embargo las mutaciones en los genes *COL1A1/COL1A2* continúan siendo la principal causa genética en la mayoría de los pacientes, representando casi el 90% de los casos en la población de origen europeo¹⁶.

Dado que la OI engloba un amplio grupo de enfermedades hereditarias, producidas por un desorden heterogéneo del tejido conectivo, en el momento actual muchos autores han comenzado a aconsejar utilizar el término " Síndrome de osteogénesis Imperfecta" a la hora de referirse a la enfermedad.

1.3.- TEJIDO CONJUNTIVO

El tejido conjuntivo (TC) es un conjunto heterogéneo de tejidos orgánicos que comparten un origen común a partir del mesénquima embrionario originado a partir del mesodermo. Proporciona soporte estructural y metabólico al resto de tejidos, por esta razón también es conocido como "tejido de sostén".

El TC está constituido por células separadas entre sí por una sustancia intercelular ó matriz extracelular. A su vez la matriz extracelular está formada por fibras y por sustancia amorfa o fundamental.

1.3.1.- CÉLULAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO

Los tejidos conjuntivos poseen varios tipos de células que difieren entre sí por su morfología y función. De manera general podemos diferenciar dos tipos de poblaciones celulares en todos los tejidos conjuntivos:

- Células fijas: constituyen la población estable de fibroblastos. Son las células que producen las fibras y la sustancia fundamental de la matriz extracelular.
- Células libres: emigran desde la sangre y tienen un ciclo vital mucho más breve que el de los fibroblastos. Están implicadas en la defensa del tejido conjuntivo.

1.3.2.- FIBRAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO

Existen tres tipos principales de fibras en los tejidos conjuntivos: colágenas, reticulares y elásticas¹⁷. La cantidad y distribución de cada tipo de fibra varía mucho de un tejido conjuntivo a otro. Teniendo en cuenta lo anterior, podemos clasificar a los tejidos conjuntivos en función de su:

A. ORGANIZACIÓN Y PROPORCIÓN DE LAS FIBRAS QUE LO INTEGRAN

- TC LAXO: denominado porque es de consistencia blanda y cede a las presiones. Está constituido por un porcentaje equilibrado de células, sustancia amorfa y una proporción escasa de fibras.
- TC DENSO: abundante proporción de fibras estrechamente entretejidas.

B. DISPOSICIÓN DE SUS FIBRAS

- TC DENSO IRREGULAR: la orientación de las fibras es aparentemente aleatoria.
- TC DENSO REGULAR: las fibras están empaquetadas en haces paralelos, como por ejemplo ocurre en las aponeurosis y tendones.

1.3.3.- SUSTANCIA FUNDAMENTAL

La constituye un gel altamente hidratado en el que están incluidas las células y fibras del TC. El componente principal de la sustancia fundamental son unas macromoléculas denominadas glucosaminglicanos. Los más importantes son: condroitín sulfato, queratán sulfato y ácido hialurónico.

1.4.- COLÁGENO

El término genérico “colágeno” engloba a una superfamilia de proteínas que, en los animales vertebrados, está constituida por más de una veintena de moléculas diferentes.

El colágeno se encuentra en todos los animales multicelulares y es la proteína más abundante de los organismos vertebrados. Es una proteína extracelular, organizada en fibras insolubles y es el principal constituyente de los tejidos conjuntivos, tales como la piel, tendones, dientes, cartílagos, ligamentos y el hueso.

Constituye el principal elemento estructural de la matriz extracelular, proporcionando la forma y dotando de fuerza y flexibilidad a los tejidos.

1.4.1.- CLASIFICACIÓN

Existen al menos 26 tipos descritos^{18,19}, que pueden agruparse en base a su estructura y organización supramolecular en varios grupos:

- 1) Colágenos formadores de fibrillas: tipos I, II, III, V y IX
- 2) Colágenos que forman parte de las membranas basales: tipo IV
- 3) Colágenos formadores de micro-fibrillas: tipo VI
- 4) Colágenos formadores de fibrillas de anclaje: tipo VII
- 5) Colágenos formadores de redes hexagonales: tipo VIII y X
- 6) Colágeno FACIT (“Fibril-associated Collagens with Interrupted Triple Helices”): tipos IX, XII, XIV, XIX, XX, XXI
- 7) Colágenos transmembrana: tipos XIII y XVII

8) Colágeno MULTIPLEXIN (“Multiple triple helix and interruptions”): tipos XV, XVI y XVIII

El 80-90% del colágeno del ser humano lo constituyen los colágenos formadores de fibrillas, es decir los tipos I, II, III, V y IX. Se trata de un grupo cuya característica fundamental es su capacidad para organizarse en estructuras supramoleculares altamente orientadas.

La particular disposición en forma de triple hélice de la molécula del colágeno es única en la naturaleza, y le confiere una notable resistencia a la tracción que le permite proporcionar fuerza y resistencia estructural al organismo.

1.4.2.- ESTRUCTURA MOLECULAR DEL COLÁGENO

Dado que la mayoría de nuestros conocimientos sobre el colágeno se refieren al grupo de los colágenos formadores de fibrillas, nos centraremos en el proceso de biosíntesis y estructura del colágeno tipo I.

La molécula simple del colágeno tipo I posee una masa molecular de ~ 258 kD, una anchura de ~ 14 Å y una longitud de ~ 3000 Å. Está constituida por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas, cada una de ellas formada por 1.000 aminoácidos. (Ilustración 1)

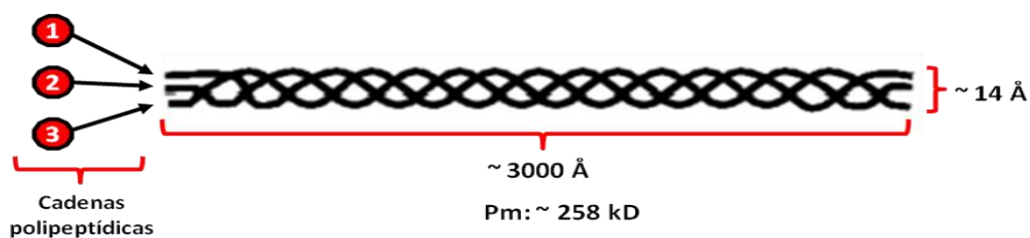


Ilustración 1.1.- Molécula simple de colágeno

La distribución de los aminoácidos en cada una de ellas es muy particular, por varios motivos:

1. En primer lugar la Glicina (Gly) constituye la tercera parte de los aminoácidos de cada cadena, un hecho único entre todas las proteínas del organismo. El resto, aproximadamente entre el 15 y el 30%, lo constituyen restos de Prolina (Pro) y

4-Hidroxiprolina (Hyp). Los aminoácidos 3-Hyp y 5-Hidroxilisina (Hyl) se encuentran también en el colágeno, pero en menores cantidades.

2. Los aminoácidos se organizan en una secuencia característica en forma de tripletes: $(\text{Gly-X-Y})_n$, en donde $n \sim 340$. La Gly siempre se encuentra presente en cada triplete y su presencia es absolutamente fundamental para el mantenimiento de la estructura de triple hélice, dado que los grupos NH de cada Gly establecen enlaces de hidrógeno con el oxígeno carbonílico de un resto "X" situado en una cadena vecina.
3. Cada triplete de aminoácidos (Gly-X-Y) en la mayoría de las ocasiones tiene una de estas dos secuencias:
 - Gly – Pro – aminoácido "Y"
 - Gly – aminoácido "X" – Hyp

Es decir, la posición "X", frecuentemente está ocupada por Pro, mientras que "Y" es normalmente Hyp. El tercer residuo de cada triplete ("Y") tienen una gran importancia, dado que pasa por el centro de la triple hélice y además se sitúa muy cerca de las otras dos cadenas.

Estos contactos tan próximos, que se dan a lo largo del eje central de la triple hélice, dejan un espacio tan pequeño que solamente puede adaptarse allí el átomo de hidrógeno que constituye la cadena lateral de la Gly; cualquier otra cadena lateral más voluminosa separaría las tres hebras de la molécula del procolágeno. Esta es la razón de que en cada tercera posición de cada cadena polipeptídica se encuentre un residuo de Gly.

Cada una de estas cadenas posee una disposición característica en forma de α hélice simple levógira, y da una vuelta completa cada 3,3 residuos. Las tres cadenas se mantienen unidas entre sí mediante puentes de hidrógeno, en donde los donadores de hidrógeno son los grupos $-\text{NH}$ de los residuos de Gly y los aceptores son los grupos peptídicos $-\text{CO}-$ de los aminoácidos de otras hebras. Los grupos hidroxilo de los residuos de Hyp también participan en la unión por puentes de hidrógeno.

Este plegamiento entre las tres cadenas conforma una superestructura en forma de triple hélice dextrógira que se denomina procolágeno. La molécula de procolágeno es

la unidad estructural básica del colágeno y es la responsable de la fuerza de tensión de la proteína.

Al igual que sucede con las formas retorcidas de una cuerda, las cadenas polipeptídicas extendidas y enrolladas entre sí convierten una fuerza de tensión longitudinal en una fuerza de compresión lateral que se soporta con mayor facilidad sobre la casi incompresible triple hélice. Esto se produce porque las direcciones con giro opuesto de las cadenas polipeptídicas del colágeno y de la triple hélice impiden los giros que se producen por tensión.

Aunque la forma helicoidal se extiende a lo largo de la molécula, existen regiones en los extremos amino y carboxilo terminales, que implican a unos 15-20 aminoácidos, que no son helicoidales. Estas regiones, conocidas como telopéptidos, son susceptibles de proteólisis, mientras que la triple hélice es resistente al ataque de la mayoría de enzimas proteolíticas.

1.4.3.- BIOSÍNTESIS DEL COLÁGENO

A. TRANSCRIPCIÓN GENÉTICA

La biosíntesis de los diferentes tipos de colágenos es un proceso complejo que comprende varias etapas. La primera de ellas consiste en la transcripción del ADN, y obtención de un RNAm específico que contiene la información genética necesaria para la síntesis de cada una de las cadenas polipeptídicas que conformarán la futura molécula del colágeno.

Existe un extenso número de genes implicados en la biosíntesis del colágeno, y típicamente se nombran empleando el prefijo *COL-*. La regulación de la transcripción del colágeno depende de cada tipo de célula, y está controlada por numerosos factores de crecimiento y citoquinas.

En el caso del colágeno tipo I, existen dos genes implicados en su biosíntesis (*COL1A1* y *COL1A2*) dado que su triple hélice está constituida por dos cadenas polipeptídicas diferentes: dos cadenas $\alpha 1$ y una cadena $\alpha 2$.

El gen *COL1A1* se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17 en la posición 21.33 (Ilustración 1.2). Codifica de secuencia de aminoácidos específica de la cadena $\alpha 1$.

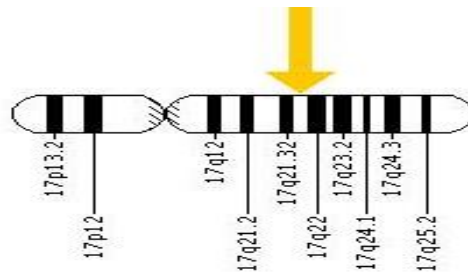


Ilustración 1.2.- Gen *COL1A1*

El gen *COL1A2* se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7 en la posición 22.1 (Ilustración 1.3) y codifica la cadena $\alpha 2$.

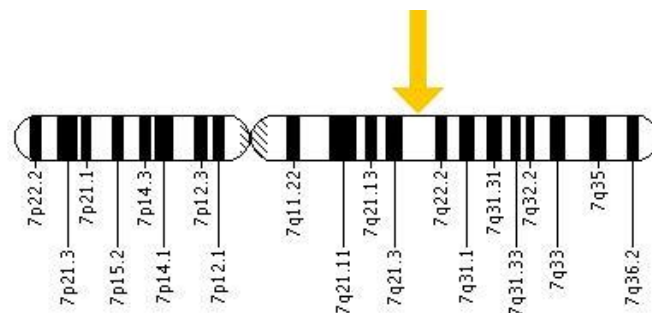


Ilustración 1.3.- Gen *COL1A2*

B. TRADUCCIÓN DEL RNAm

La traducción de los RNA mensajeros se realiza por ribosomas asociados al retículo endoplásmico. El péptido señal permite la transferencia de la cadena α al lumen del retículo endoplásmico. Estas secuencias señal son reconocidas y cortadas por la señal-peptidasa, enzima de la región luminal del retículo.

C. MODIFICACIONES DE LA CADENAS POLIPEPTÍDICAS EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO RUGOSO

I. HIDROXILACIÓN DE LOS RESTOS DE PROLINA Y LISINA

A medida que los polipéptidos del procolágeno se introducen en el retículo endoplasmático rugoso, los restos de Pro y Lys son hidroxilados para dar Hyp y 3-hidroxi-Pro y 5-hidroxi-Lys. Los enzimas que catalizan estas reacciones son:

- Prolil 4-hidroxilasa y la procolágeno lisil hidroxilasa 2 (LH2): actúan solamente sobre los restos “Y” de las secuencias Gly-X-Y.

- **Complejo prolil 3-hidroxilasa:** está constituido por tres enzimas: Pro 3-hidroxilasa 1(P3H1), CRTAP (“cartilage-associated protein”) y la ciclofilina B (CyPB), que están codificadas por los genes: *LEPRE1*, *CRTAP* y *PPIB* respectivamente. Este complejo enzimático es el responsable de la hidroxilación de un determinado número de residuos de Pro en las moléculas de los colágenos tipo: I, II y V y concretamente actúa sobre los restos “X”, pero sólo si la Y es Hyp (Ilustración 1.4). En el caso del colágeno tipo I este complejo enzimático únicamente hidroxila un aminoácido: el residuo Pro986 de las cadenas $\alpha 1$ y la Pro707 de la cadena $\alpha 2$ ²⁰. Es probable que este complejo enzimático también actúe como una Prolina cis/trans isomerasa y como una chaperona molecular²¹.

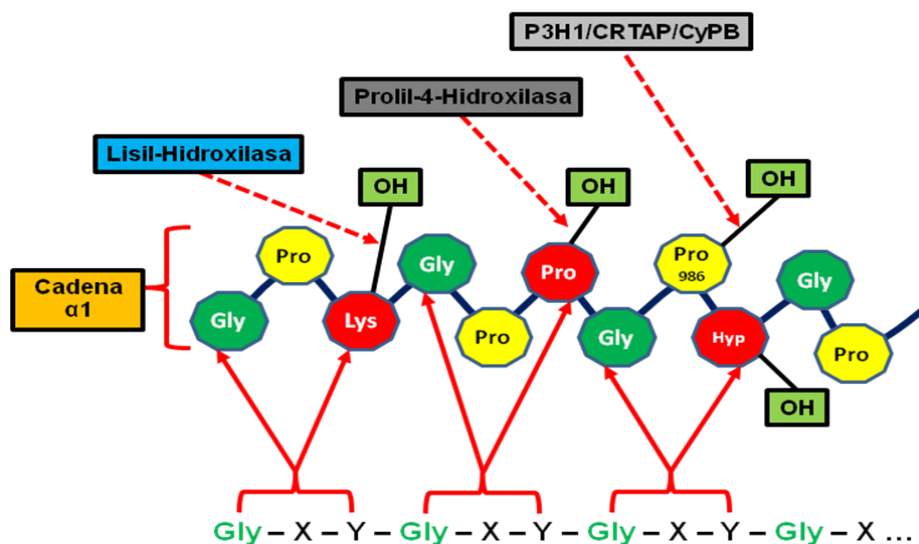


Ilustración 1.4.- Hidroxilación de los restos de Pro y Lys en la cadena $\alpha 1$

La hidroxilación de la Pro se produce en presencia de α -cetoglutarato, Fe^{2+} , O_2 y ácido ascórbico. Los grupos hidroxilos de los residuos de Hyp confieren estabilidad a la triple hélice del colágeno formando enlaces de hidrógeno entre las diferentes cadenas α .

En las situaciones en las que se inhibe la hidroxilación de la Pro (como por ejemplo en el déficit de vitamina C o el déficit de hierro), la formación de la triple hélice resulta impedida y las cadenas no hidroxiladas se degradan en el interior de la célula.

La hidroxilación de los restos de Lys es necesaria para que tenga lugar el extenso entrecruzamiento que se produce entre las fibras de colágeno mientras se ensamblan en el espacio extracelular. A diferencia de la Hyp, que sólo se encuentra en

las regiones helicoidales de la molécula, la Hyl se encuentra presente tanto en la región helicoidal como en las pequeñas regiones no helicoidales terminales, donde tiene un importante papel en la formación de puentes cruzados intermoleculares.

II. GLUCOSILACIÓN DE LOS RESTOS DE 5-Hyl

Tras producirse la hidroxilación de la Pro y la Lys, se añaden restos de hidratos de carbono a los residuos de 5-Hyl mediante un proceso de glucosilación enzimática²².

La unidad de hidrato de carbono que se encuentra con más frecuencia en el colágeno es un disacárido formado por un residuo de glucosa que está unido por medio de un enlace glicosídico (α 1 \rightarrow 2) a un residuo de galactosa. El residuo de galactosa está acoplado por medio de un enlace glicosídico β al grupo hidroxilo de un residuo de Hyl. Ambos azúcares se unen a la molécula del colágeno gracias a la acción de dos enzimas: la galactosiltransferasa y la glucosiltransferasa. (Ilustración 1.5)

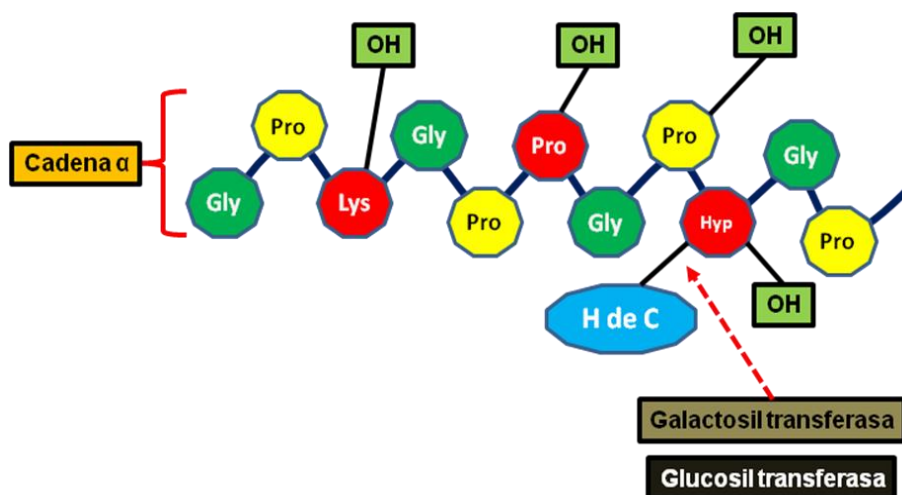


Ilustración 1.5.- Glucosilación de los restos de 5-Hyl

Tanto los procesos de hidroxilación como de glucosilación deben ser anteriores a la formación de la triple hélice, debido a que las hidroxilasas y las glucosilasas son incapaces de actuar sobre sustratos helicoidales.

III. PLEGAMIENTO DE LA TRIPLE HÉLICE

Para que tenga lugar el plegamiento de las tres cadenas polipeptídicas primero se han de alinear. Este hecho se consigue gracias a formación de enlaces específicos tipo disulfuro que tienen lugar entre los carboxipropéptidos. Esta etapa está catalizada por la enzima disulfuro isomerasa²³.

Otras proteínas y enzimas que participan en el plegamiento son las chaperonas moleculares FKBP65 y HSP47:

- Peptidil prolil cis/trans isomerasa (FKBP65): pertenece a la familia de las inmunofilinas, cambia la configuración de los enlaces de Pro.
- HSP47 (proteína del shock caliente 47): codificada por el gen *SERPINH1*, a diferencia de otras chaperonas se une a la triple hélice una vez conformada, manteniendo su estabilidad²⁴.

Las tres cadenas se mantienen unidas entre sí mediante puentes de hidrógeno, en donde los donadores de hidrógeno son los grupos -NH de los residuos de Gly y los aceptores son los grupos peptídicos -CO- de los aminoácidos de otras hebras. Los grupos hidroxilo de los residuos de Hyp también participan en la unión por puentes de hidrógeno.

D. MODIFICACIONES DEL PROCOLÁGENO EN EL APARATO DE GOLGI

Las moléculas del procolágeno pasan al Aparato de Golgi, en donde son empaquetadas en gránulos de secreción dispuestos para ser secretados a los espacios intercelulares del tejido conectivo.

E. ELIMINACIÓN DE LOS PROPÉPTIDOS N- Y C-TERMINALES DEL PROCOLÁGENO

En los extremos de la molécula del procolágeno las cadenas polipeptídicas no están dispuestas en forma de hélice, y por tanto tampoco se encuentran entrelazadas formando la triple hélice característica (Ilustración 1.6). Estas secuencias polipeptídicas son eliminadas justo antes de que el procolágeno abandone la célula:

- La eliminación del propéptido amino terminal (PINP), de 150 Å de longitud tiene lugar en primer lugar. El sitio de ruptura en el N-propeptido esta codificado por

el exón 6, tanto en el *COL1A1* como en el *COL1A2*, y sobre él actúa la metalo enzima ADAMTS-2, la cual necesita de la conformación helicoidal.

- La excisión del propéptido carboxi terminal (PICP), de 100 Å de longitud, es más compleja que la anterior, e implica a 4 proteasas diferentes^{25,26}.

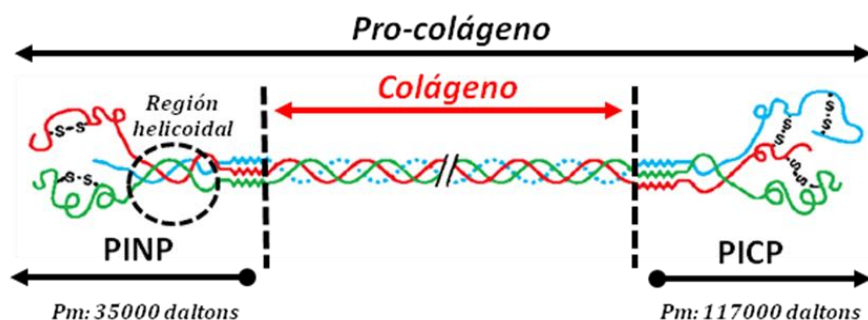


Ilustración 1.6.- Propéptidos terminales de la molécula de pro-colágeno

F. FORMACIÓN DE LAS MICROFIBRILLAS DE COLÁGENO: CROSSLINKING INTERMOLECULAR

Tras eliminarse los propéptidos del procolágeno, las moléculas de colágeno se asocian espontáneamente en fibrillas gracias a enlaces cruzados de tipo covalente: entre cruzamiento molecular o “intermolecular crosslinking”.

Se inicia mediante la conversión de los residuos de Lys e Hyl de los telopéptidos N- y C-terminales del colágeno en aldehídos (Lys^{ald} e Hyl^{ald} , respectivamente) a través de la acción de lisil oxidasas (LOXs)²⁷, que convierte algunos de los grupos ϵ -amino de las cadenas laterales de lisina o hidroxilisina en δ -aldehídos.

La cadena lateral con el grupo δ -aldehído de un residuo de Lys^{ald} sufre espontáneamente reacciones de adición nucleofílica con grupos ϵ -amino no modificados de otras Lys en una cadena adyacente, formando bases de Schiff que pueden originar puentes cruzados por unión covalente.

También puede ocurrir que dos δ -aldehídos de la cadena lateral de la Lys^{ald} reaccionen por condensación aldólica y se genere otro tipo de entrecruzamiento covalente. Además el aldol de Lys^{ald} puede reaccionar con histidina (His) y formar His^{ald} ; que reacciona con 5-Hyl para formar una base de Schiff, con lo que se enlazan transversalmente cuatro cadenas laterales.

Estas uniones covalentes pueden establecerse entre cadenas dentro de la estructura superhelicoidal o bien entre moléculas de colágeno superhelicoidales adyacentes en una fibrilla de colágeno.

1.5.- BIOSÍNTESIS Y DESTRUCCIÓN DEL TEJIDO ÓSEO

El remodelado, recambio o “turnover” óseo, es el resultado del fenómeno de continua renovación al que está sometido el hueso. Este proceso implica un equilibrio entre el proceso de destrucción ósea y retirada del hueso antiguo, y el de formación de nuevo tejido óseo.

Estos procesos son llevados a cabo por grupos especializados de células que actúan de manera coordinada y cíclica en el tiempo y el espacio y que constituyen las llamadas «unidades básicas de remodelado óseo», formadas por un grupo acoplado de osteoclastos y osteoblastos que secuencialmente realizan la resorción y formación ósea. Se estima que estas unidades renuevan al cabo de un año un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del trabecular.

El ciclo del remodelado óseo puede ser dividido en varias fases secuenciales: reclutamiento y activación del osteoclasto, fase de resorción ósea y fase de formación ósea.

1.5.1.- PRIMERA FASE: ACTIVACION Y RECLUTAMIENTO DEL OSTEOCLASTO

Las células encargadas del proceso de resorción ósea son los osteoclastos, que proceden de precursores de la hematopoyesis de la línea monocito-macrofágica: unidad formadora de colonias de granulocitos macrófagos (CFU-GM).

El proceso por el cual se desarrolla un osteoclasto enzimáticamente activo a partir del precursor CFU-GM consta de varias fases.

Inicialmente el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) sintetizado por los osteoblastos, induce la proliferación de las CFU-GM. Posteriormente se produce el reclutamiento de los preosteoclastos, un proceso que parece promovido por varias citoquinas (IL-1, IL-6 e IL-11) y diversas moléculas quimiotácticas como el factor derivado de las células estromales (SDF) y la proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1)^{28,29}.

Los pre-osteoclastos son células dotadas de un solo núcleo que se adhieren a las superficies óseas; al fusionarse entre sí dan lugar a los osteoclastos. En la fusión de los preosteoclastos participan moléculas de adhesión de su membrana pertenecientes a la familia de las caderinas.

La activación de los pre-osteoclastos es el fruto de una compleja interacción y equilibrio de señales bioquímicas, cuyo paso final y determinante es la interacción entre la proteína osteoblástica RANKL (“ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B: NF- κ B”) y su ligando específico en el preosteoclasto, la proteína RANK (“receptor activador de factor nuclear kappa B: NF- κ B”)³⁰.

Las células del estroma de la línea osteoblástica, sintetizan el polipéptido RANKL, una proteína transmembrana tipo II, ubicada en la superficie de los osteoblastos, que no obstante también puede ser liberada por proteólisis para convertirse en un ligando soluble³¹. (Ilustración 1.7) A continuación RANKL, se une a su receptor específico en los preosteoclastos: la proteína RANK.

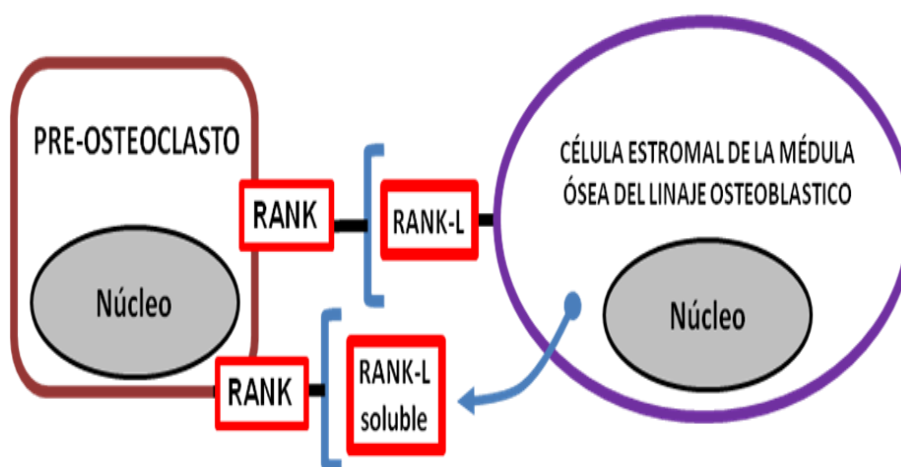


Ilustración 1.7.- Sistema RANK/RANKL

Tras el contacto RANKL/RANK, la parte citoplasmática de RANK interacciona con proteínas adaptadoras conocidas como TRAF (Ilustración 1.8). Las TRAF inician toda una cascada de señales, que conducen a la traslocación del factor de transcripción NFATc1 al interior del núcleo. Una vez allí induce la expresión de diversos genes implicados en varios aspectos de la osteoclastogénesis^{32,33}: reorganización del citoesqueleto, inducción de cambios fundamentales para su activación, movilidad y establecimiento sobre la superficie ósea a reabsorber y desencadenamiento de una señal de supervivencia en el osteoclasto maduro que disminuye su apoptosis.

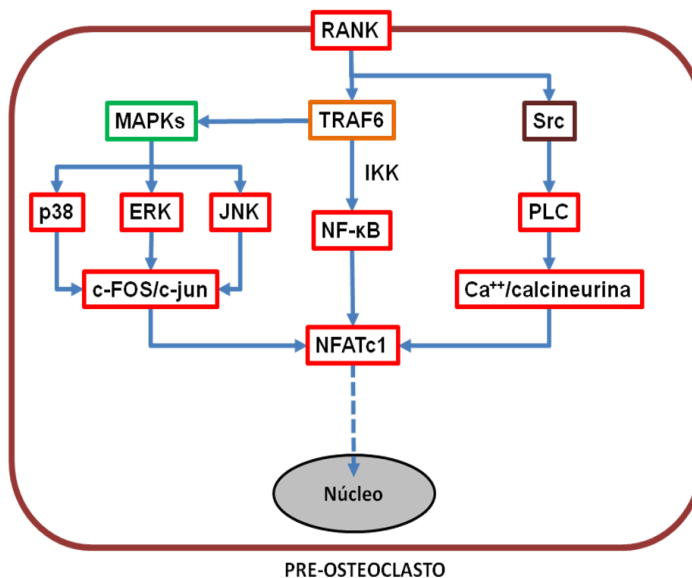


Ilustración 1.8.- Vías de señalización de RANK

Además de RANKL, los osteoblastos y pre-osteoblastos sintetizan otra proteína que también participa de manera fundamental en el mecanismo de la reabsorción ósea: la osteoprotegerina (OPG: “to protect bone”), también conocida como factor de inhibición de la osteoclastogénesis (OCIF) o como TNFRSF11B.

A nivel del hueso la OPG participa en la inhibición tanto de la maduración como de la activación de los osteoclastos.

A diferencia de RANK y RANK-L no se trata de una proteína transmembrana, sino que es secretada en forma soluble fuera de la célula en respuesta a agentes anabolizantes tales como estrógenos, proteínas morfogenéticas relacionadas al hueso (BMPs) y factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). (Ilustración 1.9)

El ligando de la OPG es la proteína OPG-L, y se encuentra anclado a la membrana de osteoblastos, células del estroma, células inmaduras mesenquimales de los bordes del cartílago y condrocitos hipertróficos o bien es liberado de la superficie celular en forma de moléculas homotrímeras solubles por acción de metaloproteasas.

La principal función de OPG-L en el hueso es la estimulación de la diferenciación de los osteoclastos, su activación y la inhibición de su apoptosis.

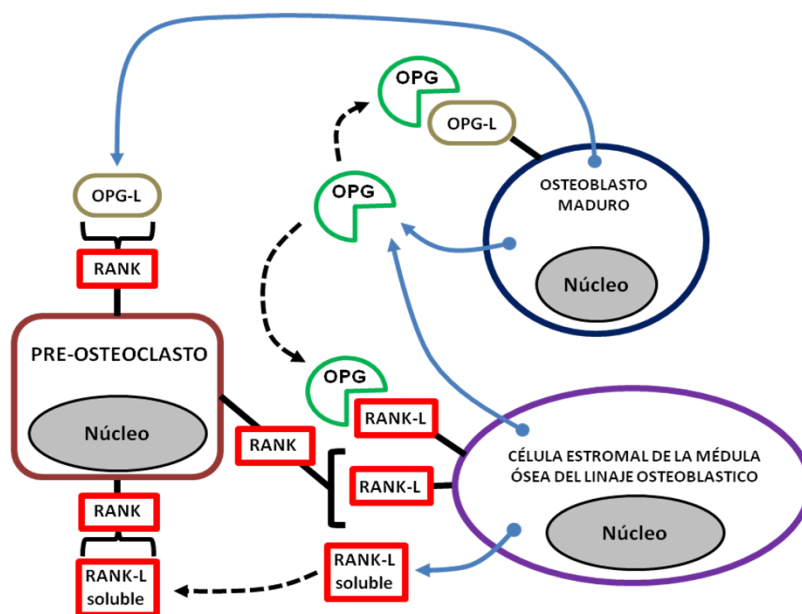


Ilustración 1.9.- Vía de actuación de RANK/RANKL/OPG/OPG-L

OPG-L resulta ser idéntico a RANK-L. Por este motivo OPG es capaz de unirse a modo de señuelo a RANK-L a nivel del precursor osteoblástico e impedir su unión a RANK. Se puede deducir que la expresión de RANKL y de OPG se coordinan para regular la resorción y densidad ósea, controlando así el estado de activación del RANK en osteoclastos.

1.5.2.- SEGUNDA FASE: RESORCIÓN ÓSEA

La resorción ósea es un proceso que dura aproximadamente entre 2 y 4 semanas, y comienza cuando los osteoclastos completamente diferenciados empiezan a segregar a la laguna de resorción protones y enzimas proteolíticas para disolver el componente mineral y la matriz orgánica respectivamente.

En primer lugar los osteoclastos se movilizan hacia la zona a reabsorber y se anclan a la matriz ósea a través del ribete en cepillo, sellando los bordes del área mediante las integrinas. Una vez adheridos a la superficie del hueso, los osteoclastos reabsorben el hueso en dos fases:

A. SOLUBILIZACIÓN DEL MINERAL ÓSEO

El mineral se solubiliza acidificando el microambiente creado entre la matriz ósea y el borde en cepillo del osteoclasto. Para conseguirlo bombean hacia el hueso

hidrogeniones que disuelven la fase mineral de la matriz y enzimas proteolíticas, que degradan el colágeno.

En el citoplasma del osteoclasto la anhidrasa carbónica cataliza la reacción entre el CO_2 y el H_2O , dando lugar a H_2CO_3 que se disocia en CO_3H^- y H^+ . El protón es bombeado activamente fuera del osteoclasto en dirección a la matriz ósea mediante una bomba de protones ATPasa dependiente. De esta manera, en la laguna de resorción por debajo de osteoclasto, se genera un pH entre 4 y 5 que garantiza el medio catalítico óptimo para las proteasas ácidas lisosomales³⁴.

El CO_3H^- es expulsado fuera de la célula a través de la superficie opuesta, donde es intercambiado activamente por Cl^- . El Cl^- no se acumula en el interior del osteoclasto puesto que es vehiculado hacia la matriz ósea a través de canales específicos situados en la membrana plegada.

B. DEGRADACIÓN DE LA MATRIZ ORGÁNICA

Una vez eliminado el mineral, la matriz orgánica es digerida por colagenasas ácidas y otras enzimas proteolíticas de origen lisosómico (cisteíno proteasas y metaloproteasas); de tal manera que el espacio de resorción adyacente al osteoclasto puede considerarse como un verdadero lisosoma extracelular especializado.

Finalmente una vez completado el proceso de resorción los osteoclastos mueren por apoptosis. Los núcleos se hacen más pequeños e hipercromáticos y se fragmentan hasta desaparecer y el citoplasma aumenta su acidofilia y se retrae. Estos restos celulares serán fagocitados por células macrofágicas.

1.5.3.- TERCERA FASE: FORMACIÓN ÓSEA

El proceso mediante el cual se forma el hueso se denomina osificación. La fase de formación ósea tiene una duración de entre 4 a 6 meses, y en ella los osteoblastos sintetizan una nueva matriz orgánica de colágeno y regulan su posterior mineralización, transformándose después en osteocitos o células de revestimiento.

En el embrión, se observan dos modos de osteogénesis; cuando la formación del hueso tiene lugar directamente en el tejido conjuntivo primitivo, hablamos de osificación intramembranosa, y cuando se realiza en cartílago previo se llama osificación endocondral.

A. OSIFICACIÓN INTERMEMBRANOSA

Tiene lugar preferentemente en los huesos planos (que no poseen una función de sostén estructural). En este proceso, las células mesenquimatosas son transformadas en osteoblastos constituyendo un centro de osificación alrededor del cual se va formando hueso. Se pueden distinguir los siguientes pasos:

- 1) Las células mesenquimatosas se agrupan en racimos en el centro de osificación y se transforman primero en células osteoprogenitoras y luego en osteoblastos.
- 2) Los osteoblastos segregan matriz ósea y fibrillas de colágeno hasta que quedan rodeados por completo
- 3) Cuando están rodeados por completo por matriz ósea, los osteoblastos se transforman en osteocitos formando lagunas y canalículos entre ellos. Las fibras de colágeno quedan atrapadas en la sustancia fundamental.
- 4) El depósito de calcio y de sales minerales endurece la matriz ósea al cabo de unos días.
- 5) Mientras se produce la calcificación de la matriz ósea aparecen las trabéculas o espículas óseas que se unen en una estructura en forma de malla dando lugar al hueso esponjoso. La lámina central de hueso esponjoso se recubre por cada uno de sus lados por placas de tejido óseo compacto. Una vez formado, el hueso plano crece de tamaño mediante la adición de más hueso por sus bordes.

B. OSIFICACION ENDOCONDRALE

Tiene lugar en los huesos largos. En primer lugar aparece en el embrión un molde cartilaginoso y posteriormente tienen lugar dos procesos diferentes que se dan de manera simultánea:

- Formación del manguito perióstico: en la periferia de la mesodiáfisis, las células mesenquimales adquieren la potencialidad para transformarse en osteoprogenitoras. A partir de ellas se empiezan a formar los osteoblastos, que conforme van sintetizando el osteoide pasan a convertirse en osteocitos.
- Simultáneamente a este proceso, en el centro de la mesodiáfisis empiezan a hipertrofiarse los condrocitos debido a la mineralización de la matriz, para morir

posteriormente. Se digiere por acción lítica parte de la matriz condral mineralizada y desde el periostio, una yema vascular rellena los huecos que se forman; debido a la migración de las células osteoprogenitoras inmersas en la capa conjuntiva perivascular de esas yemas vasculares, comenzando a formarse hueso inmaduro por parte de dichas células osteoprogenitoras.

A continuación el proceso descrito anteriormente se expande de forma lineal ascendente y descendente, creciendo el manguito perióstico en longitud. Las yemas vasculares siguen penetrando en el cartílago y a través de ellas migran las células osteoprogenitoras que madurarán a células productoras de hueso.

La mayoría de este hueso formado en el centro se reabsorbe y no se vuelve a formar, dando lugar al canal medular que será relleno por la médula ósea.

En el 9º mes aparece el núcleo de osificación secundario o epifisario, y suele aparecer antes el núcleo superior que el inferior (si posee dos epífisis). Los condrocitos del centro de la epífisis se hipertrofian, se atrofian, entran los vasos, se forma el osteoide y se mineraliza. El hueso se expande de forma radial hasta dejar la zona superior y/o inferior cubierta de cartílago que dará origen al cartílago articular.

También deja una zona de cartílago que separará el hueso diafisario del epifisario. Esta es la región denominada metafisaria o metáfisis. Las metáfisis serán las zonas de crecimiento del hueso en longitud a lo largo de nuestra vida. Primero se cierra la metáfisis inferior y luego la superior.

1.5.4.- MECANISMO BIOQUÍMICO DE LA MINERALIZACIÓN ÓSEA

La fase inicial de la formación de hueso es la secreción de moléculas de colágeno y de sustancia fundamental por parte de los osteoblastos. Los monómeros de colágeno se polimerizan rápidamente para formar fibras de colágeno, el tejido resultante se convierte en osteoide, un material parecido al cartílago pero que difiere de este en que fácilmente precipitan en él sales de calcio. A medida que se forma el osteoide, algunos de los osteoblastos quedan atrapados en él y entran en fase de reposo; entonces se denominan osteocitos.

A los pocos días de la formación del osteoide, comienzan a precipitar sales de calcio sobre las superficies de las fibras colágenas. El precipitado aparece primero con intervalos a lo largo de cada fibra de colágeno, formando diminutos nidos que

rápida­mente se multiplican y crecen durante días o semanas para formar el producto final, los cristales de hidroxiapatita.

Las sales de calcio que se depositan primero, no son cristales de hidroxiapatita, sino compuestos amorfos (no cristalinos), constituidos por una mezcla de sales como $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, y otros.

Después, por un proceso de sustitución y adición de átomos, o reabsorción y nueva precipitación, estas sales se convierten en cristales de hidroxiapatita durante un periodo de semanas o meses. Sin embargo un pequeño porcentaje puede continuar permanentemente en forma amorfa. Esto es importante porque estas sales amorfas pueden reabsorberse rápidamente cuando existe una necesidad adicional de calcio en el líquido extracelular.

1.6.-BIOMARCADORES REMODELADO ÓSEO

El proceso de remodelado óseo da como resultado la aparición tanto en sangre como en orina de un conjunto de biomarcadores cuya determinación nos permite medir la actividad de los osteoclastos y osteoblastos. Dicha medida puede hacerse desde dos puntos de vista:

- Determinación de los productos específicos sintetizados por las células óseas (fosfatasa alcalina, osteocalcina, propéptidos del procolágeno, fosfatasa ácida resistente al tartrato, etc).
- Determinación de los componentes del hueso vertidos a la circulación durante la resorción ósea (calcio, hidroxiprolina, piridinolinas, telopéptidos, etc).

Así mismo los marcadores de remodelado óseo han sido empleados en investigación clínica, proporcionándonos información sobre mecanismos de acción de fármacos y sus efectos sobre el metabolismo óseo.

1.6.1.-MARCADORES DE FORMACIÓN ÓSEA

A. FOSFATASA ALCALINA TOTAL Y ÓSEA

La fosfatasa alcalina total es una glicoproteína tetramérica que pertenece a una gran familia de proteínas unidas a las membranas plasmáticas celulares mediante un grupo glicano-fosfatidil-inositol carboxilo terminal. Existen varias isoformas de

fosfatasa alcalina (FA) que se originan en diferentes tejidos, siendo las dos fracciones mayoritarias las isoenzimas ósea y hepática.

En condiciones normales los niveles sanguíneos de la isoforma ósea corresponden a sólo el 40% de la FA total, el resto es fundamentalmente hepática aunque en ciertos casos pueden encontrarse fracciones significativas de naturaleza intestinal o placentaria³⁵.

En niños y adolescentes la isoenzima predominante es la ósea, que puede alcanzar un nivel entre 70% y 90% de la FA total³⁶. Por esta razón, en el caso de los niños, una vez descartado el fallo hepático, los niveles de FA total suponen una determinación sencilla y de bajo costo que pueden reflejar con bastante aproximación la actividad osteoblástica.

B. OSTEOCALCINA

La osteocalcina es una pequeña proteína de 49 aminoácidos (Pm: 5800 daltons) sintetizada por los osteoblastos, odontoblastos, y condrocitos. La producción de osteocalcina por parte del osteoblasto se ve influenciada por las concentraciones de 1,25 dihidroxivitamina D.

A nivel del hueso es la proteína no-colágena más abundante de la masa ósea (10%). Tras ser sintetizada por el osteoblasto, la mayor parte se incorpora a la matriz ósea uniéndose a la hidroxipatita.

La molécula precursora de la osteocalcina (pro-osteocalcina), es un propéptido que contiene tres residuos de ácido glutámico en las posiciones 17,21 y 24. Estos aminoácidos se carboxilan postraducionalmente, en una reacción dependiente de la vitamina K, y dan lugar a tres restos de ácido γ -carboxiglutámico (osteocalcina carboxilada).

Es muy importante que la molécula de osteocalcina esté carboxilada en esas posiciones porque sólo la osteocalcina totalmente carboxilada puede incorporarse a la matriz ósea; y eso se debe a que a través de esos tres residuos carboxilados se produce la unión de la osteocalcina al calcio de la hidroxipatita.

Una pequeña fracción de la osteocalcina carboxilada intacta es liberada a la circulación, y por tanto puede ser medida. Al derivar de la actividad osteoblástica se la

considera un marcador de formación. Ahora bien, durante el proceso de resorción ósea se liberan fragmentos de hueso y secundariamente de la osteocalcina que se encontraba unida a la hidroxapatita. Por ello algunos autores también la consideran más como un marcador del remodelamiento óseo que de formación. Esto explica por qué encontramos niveles aumentados de osteocalcina en pacientes con enfermedades en las que existe un aumento de actividad osteoblástica y del remodelado óseo, como en el hiperparatiroidismo, el hipertiroidismo y la menopausia.

C. PÉPTIDOS TERMINALES DEL PROCOLÁGENO

Durante la síntesis del colágeno tipo I los péptidos terminales PICP y PINP de la molécula del procolágeno son escindidos y liberados a la circulación.

Debido a sus tamaños, formas y cargas eléctricas, estos propéptidos no se eliminan por la orina sino que son eliminados de la sangre por endocitosis, a través de receptores específicos de las células endoteliales hepáticas, mediada por un receptor de manosa en el caso de PICP y tipo “scavenger” en el PINP.

Dado que estos propéptidos se liberan durante el proceso de formación de las fibras de colágeno, su determinación se ha relacionado con la formación ósea. Ahora bien, los estudios en los que se ha analizado la eficacia diagnóstica y las modificaciones de los niveles de PICP en situaciones clínicas con aumento de recambio óseo han mostrado una escasa sensibilidad de este marcador. Además en pacientes con osteoporosis los valores séricos de PICP se correlacionan débilmente con los parámetros histológicos de formación³⁷ y el incremento de este marcador tras la menopausia es poco significativo³⁸.

Sin embargo la determinación de PINP ha mostrado resultados muy distintos, ya que este marcador demuestra una gran eficiencia diagnóstica en procesos metabólicos que cursan con aumento del remodelado óseo. Así tras la menopausia quirúrgica, el PINP es el marcador de formación ósea que presenta una mayor sensibilidad diagnóstica, superando a la fosfatasa alcalina ósea, la osteocalcina y el PICP³⁹.

Se ha de destacar que los valores de estos marcadores no siempre concuerdan, a pesar de que ambos propéptidos se producen equimolarmente. La razón de esta discrepancia es desconocida, aunque se cree que podría estar relacionada con

diferencias en la liberación de estos propéptidos en los tejidos o bien en su metabolismo.

Actualmente el PICP ha caído en desuso mientras que el PINP es uno de los marcadores con un mayor rendimiento diagnóstico.

D. OTRAS PROTEÍNAS NO COLÁGENAS DE LA MATRIZ ÓSEA

Además de la osteocalcina se han identificado otras proteínas no-colágenas en la matriz ósea. Algunas de ellas son glucoproteínas fosforiladas y participan en la regulación y el mantenimiento del proceso de mineralización. Estas proteínas no-colágenas incluyen:

- Sialoproteína: sintetizada por los osteoblastos, se deposita en el nuevo tejido osteoide. Se ha sugerido que está involucrada en la regulación del remodelado óseo.
- Osteonectina: sintetizada por el osteoblasto. Es una glicoproteína que tiene gran afinidad por la hidroxiapatita, el colágeno tipo I y el calcio. Participa en la resorción, mediando la fijación de los osteoclastos a la superficie mineral.
- Osteopontina: sintetizada por el osteoblasto.

1.6.2.- MARCADORES DE DESTRUCCIÓN ÓSEA

A. HIDROXIPROLINA

La Hyp es un aminoácido de Pm 129 Da que se localiza principalmente en la molécula de colágeno y en la elastina. Se produce por hidroxilación postraducional de la molécula de prolina y no se reutiliza posteriormente; por ello se consideró un marcador específico del catabolismo del colágeno y su excreción urinaria fue considerada durante muchos años como un índice de reabsorción ósea.

Representa el 13% del contenido de aminoácidos de la molécula del colágeno, y durante la degradación de la matriz ósea pasa a la circulación, tanto en forma libre como unida a péptidos. La forma libre constituye el 90% del total, se filtra por el glomérulo y se reabsorbe casi en su totalidad metabolizándose en el hígado. De tal manera que menos del 10% de la hidroxiprolina procedente de la degradación del colágeno se excreta por la orina.

A pesar de tratarse de un marcador tradicional de resorción ósea, la Hyp es poco específica del hueso, pues puede derivar de otras fuentes de colágeno del organismo o de proteínas que contengan en su estructura secuencias de triple hélice parecidas a la del colágeno, como el complemento C1q. Asimismo los valores urinarios de este aminoácido pueden estar influenciados por la dieta, en concreto por los alimentos ricos en gelatina.

B. PIRIDINOLINA Y DEOXIPIRIDINOLINA

Las fibrillas de colágeno maduro se estabilizan mediante el desarrollo de puentes intra e intermoleculares de piridinolina y deoxipiridinolina, y se ha demostrado que tras su liberación por la acción osteoclástica no se degradan posteriormente en el organismo, por lo que se encuentran intactos en la orina⁴⁰.

La degradación del colágeno de la matriz ósea da lugar a la liberación de varios fragmentos. Estos fragmentos de colágeno contienen piridinolinas y deoxipiridinolinas, que a su vez pueden hallarse en forma libre o unidas a fragmentos peptídicos. Se ha demostrado que las formas libres representan el 40% de las formas excretadas en individuos sanos. Estos fragmentos pueden proceder de la degradación de cualquier colágeno fibrilar, pero debido a que gran parte del colágeno tipo I del organismo corresponde al tejido óseo, y a que su recambio es más rápido en el esqueleto que en el resto de los tejidos conectivos del organismo, se considera que los niveles de ambos marcadores en orina derivan básicamente de la resorción ósea.

C. TELOPEPTIDOS: BETACROSSLAPS

En los últimos años se han desarrollado métodos inmunológicos basados en anticuerpos obtenidos frente a fragmentos de cadenas de la región telopeptídica del colágeno tipo I, tanto del PICP como del PINP:

1. β -crosslaps (β -CTX): este marcador proviene de la región PICP del colágeno tipo I. Un aspecto destacable de este péptido es que uno de sus aminoácidos, en concreto el aspártico (Asp), es susceptible de isomerización y en concreto en el caso de β -CTX el Asp se encuentra en su forma isomerizada b. Dado que la b-isomerización trata de una modificación post-traducciona se cree que estos fragmentos derivan de la reabsorción de tejido óseo maduro y no se generan en la síntesis de colágeno recién sintetizado.

2. α -crosslaps (α -CTX): Representa el mismo fragmento octapéptido que el β -CTX, pero contiene la forma no isomerizada del aminoácido aspártico. De esta forma el α -CTX reflejaría probablemente el colágeno recién sintetizado.

D. FOSFATASA ACIDA RESISTENTE A TARTRATO (TRAP)

Existen dos subtipos conocidos de TRAP: 5a y 5b que se diferencian en que la 5a contiene ácido siálico y la 5b no. Esta última proviene de los osteoclastos y juega un papel importante en la reabsorción ósea.

Los niveles plasmáticos de TRAP están elevados en pacientes con enfermedades óseas metabólicas que cursan con un aumento en la velocidad del remodelado óseo. Es el único de los marcadores de remodelado que evalúa la actividad directa del osteoclasto ya que el resto de los marcadores de resorción son indicadores del grado de destrucción de la matriz ósea.

La medición de los niveles de TRAP es técnicamente difícil por lo que su utilidad en la práctica clínica ha sido limitada.

E. CATEPSINA K

La catepsina K constituye la proteasa predominante del osteoclasto. Esta enzima es muy activa contra proteínas de matriz como los colágenos tipo I y II y es la primera catepsina descrita capaz de actuar en la triple hélice de colágeno dentro de la parte helicoidal intacta de la molécula. La catepsina K está presente en el borde rugoso de los osteoclastos y en las lagunas de resorción de la superficie ósea.

1.7.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

La OI es una enfermedad rara, que afecta por igual a ambos sexos, razas y grupos étnicos⁴¹. No obstante se ha observado cómo ciertas formas recesivas de OI son más frecuentes en determinadas zonas geográficas, como por ejemplo sucede con la OI secundaria a mutaciones en el gen *LEPRE1*, cuya prevalencia es mayor en África Occidental: el 1,48% de los habitantes de Nigeria y Ghana son portadores de la mutación genética, afectando a 1 de cada 18.260 nacimientos. Los investigadores estimaron que la mutación se originó hace aproximadamente 650 a 900 años en esta parte de África Occidental (no la encontraron en países vecinos), y sugieren que dicha

mutación fue introducida en las poblaciones de los Estados Unidos durante el tráfico de esclavos del Atlántico⁴².

La prevalencia de la enfermedad se estima en 6-7 casos por cada 100000 habitantes⁴³. Los estudios de prevalencia de OI suelen estar basados en los registros al nacimiento; teniendo en cuenta que existen formas leves de la enfermedad cuyo diagnóstico puede retrasarse es probable que estos datos sean aún mayores, tal y como sostienen muchos expertos en este campo, afirmando que la verdadera prevalencia podría estar en torno a los 10 casos por cada 100000.

En 2015 Lindahl y colaboradores⁴⁴ realizaron un estudio de correlación de genotipo-fenotipo sobre un total de 223 individuos con OI provenientes de un total de 164 familias no emparentadas. Fueron incluidos 151 pacientes diagnosticados de OI tipo I, 1 de tipo II, 29 de tipo III y 42 de tipo IV. Extrapolando las cifras de prevalencia de OI encontradas en estudios previos realizados en Suecia en la década de los 80 los autores estiman una prevalencia de OI de 9,5 por cada 100 000 habitantes, lo que supone una de las mayores comunicadas en la literatura. En un intento por explicar las razones de tan elevada prevalencia afirman que la existencia de un único centro nacional de referencia para OI en Suecia, donde son evaluados todos los casos de OI así como otros casos de fragilidad ósea de causa desconocida, contribuye a detectar los casos más leves de la enfermedad.

En la actualidad, no existen registros estadísticos fiables que nos permitan conocer el número exacto de afectados y los datos proporcionados por los estudios publicados son variables.

Se estima que un 0.008% de la población mundial padece OI, lo que se traduce en 0.5 millones de personas afectadas con la enfermedad en todo el mundo. Según los datos proporcionados por AHUCE (Asociación Huesos de Cristal de España), en España podría haber un mínimo de 2700 afectados por alguno de los tipos de OI⁴⁵.

En 1979, Sillence¹¹ comunicó una incidencia de 3,5/100000 para la OI tipo I en Victoria (Australia), y una incidencia global en Australia de 1,6/100000 para la OI tipo II.

En 1981 un estudio realizado en Edimburgo⁴⁶ reveló una incidencia de OI de 1/20.000. En 2010 en Irlanda del Norte⁴⁷, Donnelly y colaboradores, llevaron a cabo un

seguimiento durante 12 años observando una incidencia de 1,5/100.000: únicamente 4 niños fueron identificados.

Las estimaciones basadas en la presencia de fracturas al nacimiento varían desde 1,6/100.000 nacimientos en Singapur⁴⁸ a 3,3/100.000 en Francia⁴⁹ y 15/100.000 en Gran Bretaña⁵⁰. Todos los estudios adolecen de tamaño muestral limitado.

Probablemente la incidencia global se encuentre ligeramente por encima de 1 de cada 10.000 nacimientos, teniendo en cuenta las muertes perinatales de los pacientes con formas letales de la enfermedad (OI tipo II y las formas letales/severas de OI tipo VIII).

Si a esto añadimos el hecho de que muchos pacientes padecen formas leves y no presentan fracturas, deformidades ni tampoco escleras azules, y por tanto no son diagnosticados inicialmente, resulta complicado conocer la incidencia real de la enfermedad.

A fecha de 16 de septiembre de 2014, la OIFE (Osteogenesis Imperfecta Federation Europe) incluía en su registro de miembros a un total de 5552 afectados, estimando que representan al 23% de pacientes con OI dentro del territorio europeo⁵¹.

1.8.- CLASIFICACIÓN DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

1.8.1.-CLASIFICACIÓN CLÁSICA: SILLENCE 1979

La primera clasificación de la enfermedad fue propuesta por Looser⁹ (1906), quien dividió la osteogénesis en: formas congénitas (con múltiples fracturas intraútero o perinatales) y formas tardías o tardas. Sin embargo en 1949 él mismo establece que no hay base histológica para sustentar esta clasificación; lo que ya reseñaba en 1897 Martin Benno Schmidt: las formas tardías y las del RN eran la misma enfermedad.

En 1949 Seedorf¹⁰ la clasifica en:

- OI congénita, tipo I ó Enfermedad de Vrolik
- OI tarda: que a su vez la subdivide en 2 subtipos: Tipo gravis, tipo II ó Enfermedad de Ekman-Lobstein, cuando la primera fractura se produce al nacer o en el primer año de vida y tipo levis ó tipo III cuando las fracturas aparecen después del primer año de vida y las deformidades son menores.

En 1979 el Dr. Sillence⁵² desarrolló una nueva clasificación numérica que dividía a la OI en cuatro tipos (I-IV) teniendo en cuenta los hallazgos clínicos, radiológicos y su patrón de herencia. (Tabla 1.1)

Posteriormente (1984) el propio Sillence y colaboradores⁵³ dividen a la OI tipo II en los subtipos A, B y C en base a los hallazgos radiológicos.

Tabla 1.1.- Clasificación de Sillence de la osteogénesis imperfecta (1979)

Tipo	Herencia	Fenotipo
I	AD	Leve (estatura normal, pocas fracturas, sin deformación de los huesos largos ni dentinogénesis imperfecta)
II	AD	Letal perinatal
III	AD	Deformante progresiva (cara triangular, baja estatura, deformidad de los huesos largos y dentinogénesis imperfecta)
IV	AD	Leve-moderado (fenotipo muy heterogéneo)

AD: Autosómica dominante.

1.8.2.-AMPLIACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN CLÁSICA: OI TIPOS V Y VI

Conforme se fue profundizando en el estudio de la enfermedad comenzaron a documentarse casos de osteogénesis no asociados a alteraciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*⁵⁴.

En el año 2004, el grupo del Dr. Glorieux⁵⁵ amplía por primera vez la clasificación de Sillence e incluye dos nuevos tipos de osteogénesis:

- OI tipo V: pacientes originalmente diagnosticados de OI tipo IV, pero que presentaban unas manifestaciones clínicas, radiológicas e histológicas características junto con ausencia de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*⁵⁶: limitación a la prono-supinación en uno a ambos antebrazos, calcificaciones en la membrana interósea, desarrollo de callos hipertróficos tras sufrir fracturas o intervenciones quirúrgicas e histología característica: patrón de lamelación ósea tosca o en forma de malla. La herencia de todos estos casos fue autosómica dominante.
- OI tipo VI: igualmente se trataba de pacientes diagnosticados de OI tipo IV pero que tampoco presentaban mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, y con unas alteraciones histológicas características⁵⁷: pérdida de la orientación normal de las laminillas óseas, con un patrón bajo la luz polarizada que asemejaba las escamas del pescado. Por otro lado los análisis cuantitativos histomorfométricos

mostraron que la cantidad de hueso esponjoso de estos niños era normal, sin embargo se objetivó menor cantidad de hueso lamelar o compacto, con un mayor contenido de osteoide no mineralizado. La herencia de todos estos casos fue autosómica recesiva.

1.8.3.- NUEVAS VARIANTES DE OI: FORMAS AUTOSÓMICAS RECESIVAS

A lo largo de las primeras décadas del siglo XXI se han ido sucediendo los estudios identificando nuevos genes ligados a formas recesivas de la enfermedad:

- OI tipo VII: descrita por Morello y colaboradores (2006), producida por mutaciones en el gen *CRTAP* y cuya característica clínica es la presencia de rizomielia⁵⁸.
- OI tipo VIII: descrita por Cabral y colaboradores (2007), asociada a mutaciones en el gen *LEPRE1*, de fenotipo y sintomatología similares a los tipos II y III de Sillence⁵⁹.
- OI tipo IX: descrita por van Dijk y colaboradores (2009), asociada a mutaciones del gen *PPIB*⁶⁰.
- OI tipo X: descrita por Christiansen y colaboradores (2010), asociada a mutaciones del gen *SERPINH1*²⁴.
- OI tipo XI: descrita por Alanay y colaboradores (2010), asociada a mutaciones del gen *FKBP10*⁶¹.
- OI tipo XII: descrita por Lapunzina y colaboradores (2010), asociada a mutaciones del gen *SP7*⁶².
- OI tipo XIII: descrita simultáneamente por Martínez-Glez (2012) y Asharani (2012), asociada a mutaciones del gen *BMP1*^{63,64}.
- OI tipo XIV: descrita por Shaheen y colaboradores (2012), asociada a mutaciones del gen *TMEM38B*⁶⁵.
- OI tipo XV: descrita de forma simultáneamente por varios grupos (2013), asociada a mutaciones en el gen *WNT1*^{66,67}.

Por esta razón algunos autores⁶⁸, plantean la necesidad de ampliar la clasificación original añadiendo nuevos tipos de OI en razón a criterios genéticos. (Tabla 1.2)

Tabla 1.2.- Clasificación ampliada de la OI

Tipo OI	Herencia	Fenotipo	Defecto genético
I	AD	Leve	<i>COL1A1</i>
II	Ligado a X	Leve	<i>PSL3</i>
III	AD	Letal	<i>COL1A1/COL1A2</i>
IV	AD	Progresivamente deformante	<i>COL1A1/COL1A2</i>
V	AD	Moderada	<i>COL1A1/COL1A2</i>
VI	AD	Moderada, callos hipertróficos y calcificación de la membrana interósea	<i>FITM5</i>
VII	AR	Moderada a severa	<i>SERPINF1</i>
VIII	AR	Severa a letal	<i>CRTAP</i>
IX	AR	Severa a letal	<i>LEPRE1</i>
X	AR	Severa a letal	<i>PPIB</i>
XI	AR	Severa	<i>SERPINH1</i>
XII	AR	Progresivamente deformante, contracturas	<i>FKBP10</i>
XIII	AR	Moderada	<i>SP7</i>
XIV	AR	Severa	<i>BMP1</i>
XV	AR	Gravedad variable	<i>TMEM38B</i>
XV	AD	Gravedad variable	<i>WNT1</i>
	AD	Osteoporosis inicio precoz	

Adaptada de Forlino y colaboradores⁶⁸

1.8.4.- CLASIFICACIÓN INCDS DE LOS SÍNDROMES DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

Para otros autores⁶⁹ la gran complejidad genética de las bases moleculares de la OI junto con su amplia variabilidad fenotípica hace difícil el sostener una clasificación basada en la expansión de los tipos clásicos de Sillence, resultando confusa y de poca utilidad clínica.

En Agosto de 2009 el INCDS (International Nomenclature Group for Constitutional Disorders ICHG of the Skeleton) propuso que los síndromes de OI fueran clasificados en 5 tipos. Conservan los tipos de Sillence a la hora de unificar el fenotipo de la OI, pero emplean números arábigos (1-5) para clasificarla^{70,71}; denominando OI tipo 5 a la asociada a calcificación de la membrana interósea y/o callos hipertróficos. (Tabla 1.3).

Esta nueva clasificación incluía a la OI junto con otras displasias esqueléticas que se acompañan de disminución de la DMO, tales como el Síndrome de Bruck tipos 1 y 2, displasia de Cole-Carpenter, displasia de Singleton–Merten, Síndrome osteoporosis-pseudoglioma, osteoporosis idiopática juvenil, entre otros.

Tabla 1.3.- Clasificación de la OI (INCDS)

Tipo OI	Herencia	Gen
Forma no deformante (OI tipo 1)	AD	<i>COL1A1, COL1A2</i>
Forma letal perinatal (OI tipo 2)	AD, AR	<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, LEPRE1, PPIB</i>
Progresivamente deformante (OI tipo 3)	AD, AR	<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, LEPRE1, PPIB, FKBP10, SERPINH1</i>
Forma moderada (OI tipo 4)	AD, AR	<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, FKBP10, SP7</i>
Asociada a calcificación de la membrana interósea y/o callos hipertróficos (OI tipo 5)	AD	**

Adaptada de Warman ML y colaboradores⁷¹

1.8.5.- CLASIFICACIONES BASADAS EN LA VÍA MOLECULAR IMPLICADA

En 2016 Antonella Forlino y Joan C Marini⁷² proponen una nueva clasificación fundamentada en las bases moleculares de la enfermedad: gen implicado, defecto proteico y localización de alteración molecular (intracelular o matriz extracelular). De esta forma los autores distinguen 5 grupos:

- Grupo A: defectos en la síntesis de la estructura colágeno o su procesamiento. Genes implicados: *COL1A1, COL1A2* y *BMP1*.
- Grupo B: defectos en las modificaciones del colágeno. Genes: *CRTAP, LEPRE1, PPIB* y *TMEM38B*.
- Grupo C: defectos en los procesos de plegamiento y entrecruzamiento. Genes: *SERPINH1, FKBP10* y *PLOD2*.
- Grupo D: defectos en la mineralización ósea. Genes: *IFITM5* y *SERPINF1*.
- Grupo E: defectos en el desarrollo de los osteoblastos con insuficiencia de colágeno. Genes: *SP7, WINT* y *CREB3L1*.

En definitiva no existe unanimidad entre los distintos autores sobre cuál es la clasificación de la OI más correcta. Quizás la clasificación clínica en formas leves,

moderadas y graves especificando el gen mutado puede ayudarnos a valorar las posibilidades terapéuticas en cada caso, así como la evolución de la enfermedad y el consejo genético.

1.9.-GENÉTICA Y FORMAS CLÍNICAS DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

El 90% de los casos de OI presentan herencia autosómico dominante (AD) ligada a mutaciones heterocigotas en uno de los dos genes que codifican la molécula del colágeno tipo I: *COL1A1* y *COL1A2*⁷³. Únicamente un 10-15% de los casos son debidos a mutaciones de tipo AR.

Dichas mutaciones pueden ser heredadas de uno de los progenitores o pueden aparecer de novo. El porcentaje de mutaciones de novo depende de la severidad de la enfermedad: aproximadamente un 60% de los pacientes para las formas leves de OI (tipos I y IV) y casi un 100% para las formas más severas (tipos II y III).

Así mismo se debe tener en cuenta la posibilidad de los niños nacidos con OI cuyos padres no padezcan la enfermedad, puedan ser portadores de un mosaicismo germinal^{74,75}.

Se desconoce qué proporción de mutaciones catalogadas de novo son en realidad el resultado de mosaicismos parentales, ya que no solo son complejos de identificar sino que además pueden suceder en cualquier tipo de OI. El mosaicismo para mutaciones dominantes ha sido reconocido en la OI de tipo II, III y V⁷⁶.

1.9.1.- FORMAS AUTOSÓMICO DOMINANTES DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

Las formas dominantes de OI están asociadas a mutaciones en los genes *COL1A1* o *COL1A2*, responsables de codificar las cadenas $\alpha 1$ y $\alpha 2$ de la molécula del colágeno tipo I. Recientemente ha sido identificado el gen responsable de la OI tipo V (*IFITM5*), una forma de OI de herencia AD caracterizada por la formación de callos hipertróficos.

Dependiendo del tipo de mutación podemos diferenciar dos posibles mecanismos etiopatogénicos: por un lado aquellas mutaciones que conducen a una haploinsuficiencia del gen *COL1A1* y por otro las que dan lugar a alteraciones estructurales en la triple hélice.

A. HAPLOINSUFICIENCIA DEL GEN *COL1A1*

Las mutaciones en uno de los dos alelos de gen *COL1A1*, son definidas como mutaciones “cuantitativas”, y conducen a un déficit cuantitativo en la síntesis de colágeno normal. Es decir la calidad del colágeno sintetizado es normal, pero su cantidad es menor.

Este tipo de mutaciones suelen ser o bien mutaciones de tipo “sin sentido” (*nonsense*) o bien mutaciones de tipo “cambio de marco de lectura” (*frameshift*), y en ambos casos dan lugar a la aparición de un codón de parada prematuro.

Habitualmente dan lugar a formas leves de la enfermedad (como por ejemplo la OI tipo I). Los pacientes presentan talla baja, deformidades mínimas o ausentes, escleras azuladas, sordera en un 50% de los casos y mayor susceptibilidad a presentar fracturas. Es infrecuente la presencia de dentinogénesis.

B. MUTACIONES CON CAMBIO DE SENTIDO Y MUTACIONES EN SITIOS DE EMPALME

Por el contrario, las mutaciones de tipo “cambio de sentido” (*missense*) en la cadena $\alpha 1$ o $\alpha 2$, especialmente aquellas que originan sustituciones del aminoácido Gly dentro del triplete Gly-X-Y de la triple hélice, así como las mutaciones en sitios de empalme (*splicing*) que conducen a deleciones de tipo *in-frame* o a *exon skipping* son consideradas como mutaciones cualitativas o estructurales; y pueden dar lugar a formas moderadas (OI tipo IV), graves (OI tipo III) e incluso letales (OI tipo II) de la enfermedad.

Este tipo de mutaciones alteran de una manera significativa la estructura y el plegamiento normal de la triple hélice del colágeno y originan toda una cascada de efectos deletéreos tanto a nivel intracelular (modificaciones post-traduccionales anormales, alteración en el plegamiento...) como extracelular (disminución del colágeno de la matriz, mineralización anormal, alteración en la señalización matriz-célular).

A pesar del elevado número de mutaciones descritas en los genes *COL1A1* y *COL1A2* resulta complicado establecer una correlación genotipo-fenotipo, sin embargo sí se pueden establecer unos principios generales:

- Las mutaciones que alteren la estructura cercana al extremo C-terminal originan fenotipos más severos.
- Un alto número de mutaciones que originan formas letales afectan a la cadena $\alpha 1$ en lugar de la cadena $\alpha 2$
- Un tercio de las sustituciones de Gly en la triple hélice son letales, especialmente cuando la Gly es reemplazada por aminoácidos de cadena ramificada o aminoácidos con grupos R polares cargados.
- Se han identificado 2 regiones letales en la cadena $\alpha 1$ y 8 en la cadena $\alpha 2$ que actúan como ligandos de integrinas, metaloproteasas y proteoglicanos de la matriz.

1.9.2.- FORMAS CLÍNICAS DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA DE TIPO AUTOSÓMICO DOMINANTE

A. OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO I

Es la forma más leve de la enfermedad y a su vez la más frecuente. Se estima una incidencia de alrededor de 1 de cada 30000 nacidos vivos, y generalmente no es identificada al nacimiento.

- Etiopatogenia: la OI tipo I se asocia a una reducción del 50% de la cantidad de colágeno tipo I. Normalmente este déficit de producción es debido a diferentes tipos de mutaciones (*frameshift*, *nonsense* y *splicing*) sobre uno de los dos alelos del gen *COL1A1*; que dan como resultado una inestabilidad del correspondiente RNAm y por tanto a una haploinsuficiencia del gen⁷⁷. En otras ocasiones se debe a deleciones completas del gen *COL1A1*⁷⁸ o bien a mutaciones tanto en *COL1A1* como en *COL1A2* que producen sustituciones de aminoácidos (Gly por pequeños aminoácidos como: serina (Ser), alanina (Ala) y cisteína (Cys), en el extremo amino terminal de la triple hélice.
- Manifestaciones al nacimiento: tanto el peso como la longitud de estos niños es normal. La presencia de fracturas es infrecuente durante el periodo perinatal.
- Crecimiento: aunque su talla final (TF) puede ser normal, habitualmente es inferior a la del resto de familiares no afectados. También se han descrito casos de talla baja en pacientes con OI tipo I pero habitualmente no superior a <2SD.
- Fracturas y deformidades óseas postnatales: suelen presentar sus primeras fracturas en la etapa preescolar, coincidiendo con el inicio de la deambulación. También son típicas durante la edad prepuberal, en relación con traumatismos leves; su frecuencia disminuye pasada la pubertad. Las deformaciones óseas son poco frecuentes y leves (mínimas incurvaciones de los huesos largos). A medida que el niño se acerca a la edad adulta la altura de los cuerpos vertebrales puede disminuir, sin que ello condicione el desarrollo de escoliosis.
- Audición: la pérdida de audición en la OI tipo I se asemeja a la de la otoesclerosis. Inicialmente presentan hipoacusia de transmisión, y posteriormente mixta o neurosensorial. Un estudio finlandés⁷⁹ encontró una incidencia de hipoacusia en adolescentes con OI tipo I de cerca del 60%.
- Dentinogénesis: la asociación con dentinogénesis imperfecta (DI) es variable⁸⁰, pudiéndose dividir la OI tipo I en: IA (sin DI) y IB (con DI).
- Escleras: azuladas, y a diferencia de otras formas de OI como la tipo III o la IV, mantienen dicha coloración durante buena parte de su vida, pudiendo ir desapareciendo al llegar a la adolescencia o la edad adulta.

- Otras manifestaciones: hipermovilidad articular⁸¹, afectación valvular cardíaca subclínica⁸² y aumento de hematomas subcutáneos.

B. OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO II

La OI tipo II es la forma más severa de la enfermedad (forma letal perinatal), presentando numerosas fracturas intrauterinas (cráneo, vértebras y huesos largos). Presenta una incidencia de 1-2/100000⁸³. No se dispone de datos acerca de su prevalencia dada su elevada mortalidad al nacimiento.

En base a los hallazgos radiológicos se ha clasificado en 3 tipos⁸⁴: OI tipo II-A (costillas anchas con múltiples fracturas, rosario costal continuo, afectación grave del desarrollo del fémur), OI tipo II-B (costillas normales ó adelgazadas con algunas fracturas, rosario costal discontinuo, escaso desarrollo del fémur) y OI tipo II-C (diversos espesores de las costillas, rosario costal discontinuo, escápulas e ísqueon malformados, huesos largos finos y curvados).

- Etiopatogenia: la OI tipo II-A está producida por mutaciones en los genes del colágeno tipo 1 (*COL1A1* y *COL1A2*) y es de herencia AD. La OI tipo II-B puede tener una herencia bien AD, asociándose igualmente a mutaciones en *COL1A1* y *COL1A2*; bien AR asociándose a mutaciones en los genes *CRTAP*, *LEPRE1* o *PPIB*. La OI tipo II-C es extremadamente rara, y es cuestionada por algunos autores.
- Manifestaciones al nacimiento: peso bajo para su edad gestacional, deformidades óseas (huesos cortos, tórax pequeño, arqueamiento de los huesos largos: sus piernas se encuentran en posición de “rana”), escleras azul oscuro o grisáceas. Cráneo grande y blando. Pueden presentar macrocefalia, la microcefalia es infrecuente. Los recién nacidos afectados suelen fallecer a las pocas semanas del nacimiento, siendo la causa más común de fallecimiento el fallo respiratorio y cardíaco, normalmente asociado a su tórax pequeño, las fracturas costales, neumonía y quizás también relacionado con anomalías intrínsecas en el propio tejido pulmonar secundarias a las alteraciones del colágeno: hipoplasia pulmonar⁸⁵.

C. OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO III

La OI tipo III fue inicialmente incluida por Silience como una forma de la enfermedad de herencia AD. Hoy en día sabemos que también existen variantes AR, que desde el punto de vista clínico son difíciles de diferenciar de las formas dominantes. Algunos autores estiman su prevalencia en 1 de cada 300000 de nacimientos⁸³.

Es el tipo de osteogénesis más severo de entre los que sobreviven al periodo neonatal. El grado de fragilidad ósea y ratio de fracturas varía considerablemente entre los pacientes, y va condicionando la progresiva deformación del esqueleto.

- Etiopatogenia: la mayoría de casos de OI tipo III son el resultado de mutaciones dominantes espontáneas (habitualmente sustituciones de la Gly) en los genes del colágeno tipo 1. Así mismo también existen variantes recesivas de la OI tipo III causadas por mutaciones en los genes: *CRTAP*, *LEPRE1*, *PPIB*, *BMP1*, *FKBP10*, *SERPINH1*, *TMEM388*, *WNT1*, *CREB3L1*.
- Manifestaciones al nacimiento: deformidades óseas (miembros ligeramente cortos y arqueados, tórax pequeño, cráneo blando), múltiples fracturas en miembros y costillas. Son habituales los problemas respiratorios y con la deglución durante el periodo neonatal.
- Crecimiento: las numerosas fracturas de huesos largos, así como la tensión muscular sobre el hueso enfermo y la afectación de los cartílagos de crecimiento van condicionando la progresiva deformidad del esqueleto, de tal manera que estos niños muestran una marcada talla baja; siendo raro que la TF supere los 102 cm.
- Fracturas y deformidades esqueléticas postnatales: a nivel de la columna son frecuentes la escoliosis, las fracturas vertebrales por compresión y la deformación torácica. La afectación de los platillos de crecimiento da lugar a un característico aspecto en forma de “palomita de maíz” de las metáfisis y epífisis (Ilustración 1.10), que se puede apreciar en un 50% de los pacientes; no es un hallazgo radiológico patognomónico de OI tipo III, habiéndose también descrito en pacientes con OI tipos IV, VII, VIII y XV⁸⁵⁻⁸⁷. La cabeza es proporcionalmente más grande que el resto del cuerpo, siendo típica la forma triangular de la cara, con frente abombada y subdesarrollo de los huesos faciales.

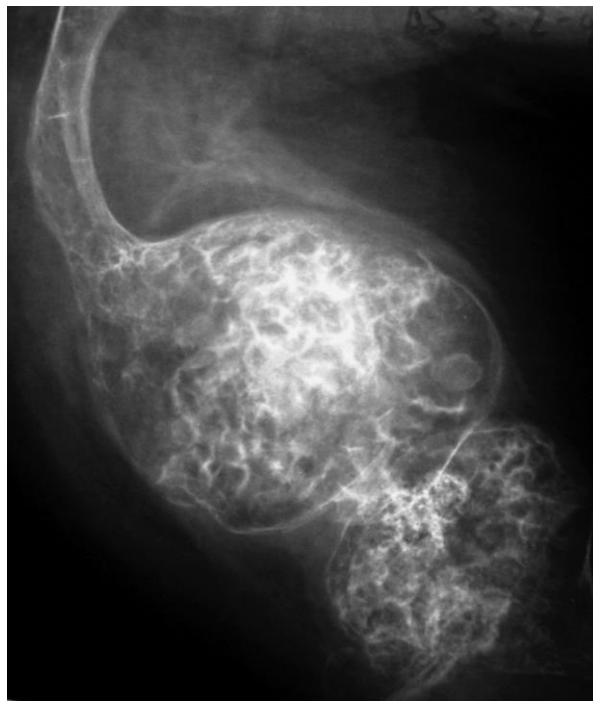


Ilustración 1.10.- Calcificación en palomita de maíz

- Escleras: la tonalidad de las escleras es variable, desde blancas a azules, púrpuras o grises.
- Dentinogénesis: es muy frecuente pero no universal.
- Otras manifestaciones: los patrones de lamelación bajo luz polarizada son ligeramente irregulares en relación a los controles sanos. (Ilustración 1.11)

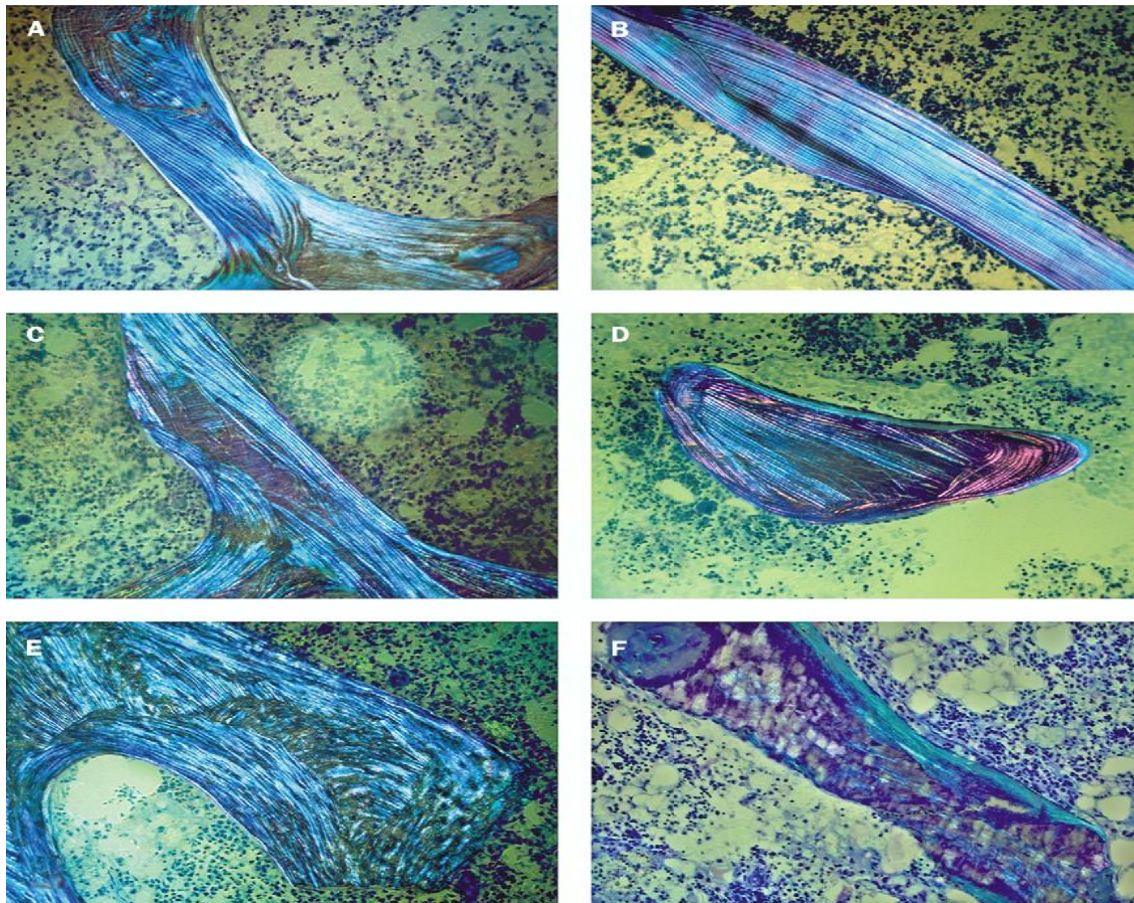


Ilustración 1.11.- Patrones de lamelación bajo luz polarizada. (A) Control sano. (B) OI tipo I: patrón regular pero con laminillas más finas. (C) OI tipo III: Lamelación ligeramente irregular. (D) OI tipo IV: patrón similar al de la OI tipo III. (E) OI tipo V: patrón en malla. (F) OI tipo VI: patrón típico en escama de pescado. Extraído de Rauch y colaboradores⁸⁸.

D. OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO IV

El grado de afectación de los pacientes con OI tipo IV es muy variable. Comprende desde pacientes con escaso número de fracturas (similiar a la OI tipo I) a casos con afectación severa (asemejándose a la OI tipo III).

El diagnóstico puede realizarse al nacimiento pero lo más habitual es que se produzca más tarde. Las manifestaciones clínicas más importantes son:

- Etiopatogenia: la OI tipo IV presenta un tipo de herencia autosómico dominante. Las mutaciones más típicamente asociadas son sustituciones de la Gly en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, tratándose en muchos casos de mutaciones de novo. También puede ser AR y estar causada por mutaciones en los genes: *CRTAP*, *LEPRE1* o *PPIB*.
- Crecimiento: asocia retraso de crecimiento moderado-severo.
- Fracturas y deformidades esqueléticas postnatales: arqueamiento de los huesos largos, pero en menor grado que la OI tipo III. Acortamiento del húmero y fémur. Pueden presentar: fracturas de huesos largos, compresión vertebral, escoliosis leve-moderada e hiperlaxitud ligamentosa. Tienen mayor riesgo de presentar síndromes de compresión de fosa posterior secundarios a impresión basilar.
- Escleras: suelen ser de color azul claro durante la infancia, pero pueden ir aclarándose hasta el blanco conforme alcanzan la edad adulta.
- Dentinogénesis: puede o no estar presente.
- Audición: No suele asociar deterioro de la audición.

E. OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO V

La OI tipo V fue descrita por primera vez en el año 2000 por el grupo del Dr. Glorieux⁵⁶, en un grupo de pacientes originalmente diagnosticados de OI tipo IV, pero que presentaban unas manifestaciones clínicas, radiológicas e histológicas características junto con ausencia de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*.

- Etiopatogenia: ausencia de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*. Herencia AD. Recientemente ha sido identificada una mutación recurrente en el gen *IFITM5* como la responsable de la OI tipo V^{89,90}. El gen *IFITM5* (11p15.5) codifica la proteína transmembrana 5 inducida por interferón, que se ha localizado en los osteoblastos y se piensa que participa en la formación ósea y maduración osteoblástica. En la cohorte de pacientes con OI tipo V descrita por el grupo de Shapiro y colaboradores⁹¹ todos ellos presentaron la misma mutación en *IFITM5*, y sin embargo se encontraron grandes variaciones en relación a su fenotipo.
- Crecimiento: talla baja leve/moderada.
- Fracturas y deformidades esqueléticas postnatales: calcificaciones en la membrana interósea del antebrazo que tiene como consecuencia una limitación de la prono-supinación. Desarrollo de callos hipertróficos (Ilustración 1.12), sobre todo de los huesos largos, tras sufrir fracturas o intervenciones quirúrgicas. Aparecen en aproximadamente el 65% de los individuos afectados⁹² y es la manifestación característica de este tipo de OI. Estos callos hipertróficos pueden

simular osteosarcomas. Luxación de la cabeza radial. Banda radiodensa a nivel de la metáfisis de crecimiento. No asocia huesos Wormianos.

- Escleras: ausencia de escleras azules.
- Dentinogénesis: ausente.
- Histología característica: patrón de lamelación ósea tosca o en forma de malla.



Ilustración 1.12.- Callo hipertrófico

1.9.3.- FORMAS AUTOSÓMICO RECESIVAS DE OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

Representan aproximadamente del 10%-15% de los casos de OI. Incluyen un amplio número de enfermedades no relacionadas con errores en la biosíntesis del colágeno tipo I, sino con los posteriores procesos de entrecruzamiento, hidroxilación de telopéptidos, minelarización etc.

Conforme se han ido descubriendo nuevos genes implicados en la OI, los casos de herencia AR, que antiguamente eran incluidos en la clasificación de Sillence; pero que clínicamente no encajaban completamente con los tipos generales, han ido saliendo de dicha clasificación para tomar entidad propia. Sin embargo esto plantea un problema de cara a desarrollar una clasificación de la enfermedad ya que un mismo gen puede ser el responsable de formas fenotípicamente similares, unas AD y otras AR.

Así por ejemplo algunos autores como Barnes, siguiendo la nomenclatura numérica clásica de Sillence, consideran a las nuevas variantes recesivas ligadas a mutaciones en *PPIB*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *SP7*, y *SERPINF1* como OI tipos IX, X, XI, XII y VI respectivamente. Sin embargo otros autores como van Dijk, basándose en la similitud de los hallazgos clínico radiológicos de estas nuevas variantes con la de las antiguas formas recesivas de OI TIPO IIB, III y IV, prefieren seguir considerándolas como formas recesivas de OI II-B/III/IV ligadas a *PPIB*/ *SERPINH1*/ *FKBP10*/ *SP7*.

A continuación se describen las características de las principales formas de OI de herencia recesiva descubiertas hasta la fecha.

A. GEN *SERPINF1*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO VI

La OI tipo VI fue descrita por primera vez por el grupo de Glorieux en el año 2002⁵⁷. Describieron un grupo de 8 pacientes que inicialmente fueron clasificados como OI tipo IV, pero cuyo estudio genético fue negativo para mutaciones a nivel de los genes *COL1A1* y *COL1A2*. La característica fundamental de este grupo de pacientes fue el hallazgo histológico de una pérdida de la orientación normal de las laminillas óseas, con un patrón bajo la luz polarizada que asemejaba las escamas del pescado (en la OI tipo IV la orientación es normal). La herencia de todos estos casos fue AR.

En el 2011 el grupo de Becker relaciona por primera vez al gen *SERPINF1* como el responsable de la OI tipo VI⁹³.

El gen *SERPINF1* está localizado en 17p13.3, y codifica el factor PEDF (factor pigmentario derivado del epitelio), una glicoproteína (50 kDa) compuesta por 418 aminoácidos que, entre otras propiedades biológicas (actividad antitumoral en base a su capacidad anti-angiogénica, efectos neurotróficos y neuroprotectores a nivel del sistema nervioso central (SNC) y efectos sobre el metabolismo hepático de la glucosa y los lípidos), muestra una alta afinidad por los colágenos de la matriz extracelular^{94,95}.

Se cree que el PEDF tiene un papel regulador sobre la homeostasis ósea como inhibidor de la resorción ósea. A nivel del hueso se ha reportado que PEDF actúa a nivel de la OPG, la cual inhibe la maduración del osteoclasto⁹⁶. Así mismo posee una gran actividad anti-angiogénica, que se correlaciona con la actividad pro-angiogénica del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). El balance entre estos dos factores parece ser crucial en el proceso de formación y resorción ósea⁹⁷.

PEDF es capaz de inducir la diferenciación de los precursores osteoblásticos en células maduras, y por otro lado VEGF facilita la formación de los osteoclastos y la reabsorción ósea. PEDF supuestamente parece comportarse como un antagonista de VEGF ya que puede inducir una disminución de su expresión⁹⁸.

Los pacientes afectados de OI tipo VI muestran una cantidad de hueso esponjoso normal, pero menor cantidad de hueso lamelar o compacto al existir un mayor contenido de osteoide no mineralizado. El grupo de Venturi⁹⁷ sugiere que la presencia de osteoide no mineralizado, la falta de organización de la matriz ósea y el aumento de los

marcadores de resorción ósea, sería el resultado del desequilibrio entre PEDF y VEGF; la falta de PEDF implicaría tanto un defecto de la neoformación ósea como una regulación al alza de los niveles de VEGF, favoreciéndose por tanto la actividad osteoclástica.

B. GEN *CRTAP*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO VII

El término OI tipo VII es acuñado por Ward y colaboradores⁹⁹. Describieron a cuatro niños y cuatro adultos, que pertenecían a una gran familia consanguínea proveniente de una aislada comunidad de las Primeras Naciones en el norte de Quebec.

Presentaban una afectación moderada-severa, caracterizada por fracturas al nacimiento, escleróticas azuladas, deformidad temprana de las extremidades inferiores, coxa vara, osteopenia y rizomelia.

Los análisis histomorfométricos de la biopsia de cresta ilíaca revelaron hallazgos similares a la OI tipo I, con una disminución de la anchura cortical y del número de trabéculas, aumento del recambio óseo, y preservación de la pauta birrefringente del hueso laminar.

Posteriormente Morello y colaboradores⁵⁸, apoyándose en el fenotipo osteocondrodisplásico rizomélico de los ratones *CRTAP* null, describen cómo la OI tipo VII se asocia a una pérdida parcial de la funcionalidad de la proteína *CRTAP*.

El gen *CRTAP* (3p22.3) codifica la llamada “proteína asociada al cartílago”, una proteína que forma parte del complejo enzimático prolil 3-hidroxilasa y que por tanto participa en la hidroxilación de los restos de Pro y Lys de la molécula del colágeno a nivel del retículo endoplásmico rugoso.

C. GEN *LEPRE1*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO VIII

El gen *LEPRE1* (1p34.1) codifica la enzima P3H1, que forma parte del complejo enzimático prolil 3-hidroxilasa junto con las proteínas *CRTAP* y *CypB*. Este complejo enzimático es responsable de la hidroxilación del residuo de Pro localizado en la posición 986 de la cadena $\alpha 1$ del colágeno tipo I.

El grupo de Cabral y colaboradores⁵⁹ fue el primero en describir la asociación entre *LEPRE1* y OI. Presentaron un total de cinco casos de síndrome de “OI like” en los que el estudio de los genes *COL1A1* y *COL1A2* fue normal. A excepción de uno de los casos, de origen pakistaní, el resto eran de procedencia africana. Tres de los casos fueron formas letales.

Su fenotipo era superponible a los tipos II y III de Sillence, pero con algunas diferencias: presencia de escleras blancas, facies redondeada y tórax corto, con forma de barril.

Al nacimiento presentaron múltiples fracturas óseas. Las radiografías de huesos largos de los dos casos no letales mostraron unas metáfisis “bulbosas”, con aparente

desorganización de la matriz. Sus manos presentaron falanges alargadas y acortamiento de los metacarpianos. La edad ósea fue normal.

Los dos casos no letales desarrollaron fracturas vertebrales por compresión a los 14 meses y 5 años respectivamente. Su DMO fue considerablemente inferior a la de otros individuos con formas severas de OI (z-score en L1-L4 de -7SD).

Aproximadamente un tercio de los casos de descritos de OI asociados a *LEPRE1* comparten idéntica mutación: c.1080+1G>T¹⁰⁰. Algunos autores especulan con la posibilidad de que el origen de la misma se encontrase en la zona del oeste de África (Ghana, Nigeria), siendo posteriormente introducida en Norte América a través del tráfico transatlántico de esclavos⁴².

D. GEN *PPIB*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO IX

El gen *PPIB* (15q22.31) es el responsable de codificar la enzima CyPB¹⁰¹, y forma parte del complejo enzimático prolil 3-hidroxilasa.

La CyPB es una proteína de 21kDA perteneciente a la familia de las ciclofilinas, un conjunto de proteínas (tanto intracelulares como de secreción extracelular) que fueron originalmente identificadas como ligandos de la droga inmunosupresora ciclosporina A. Las ciclofilinas son enzimas de la familia de las peptidil-prolil cis-trans isomerasas, y catalizan la isomerización cis-trans de enlaces peptídicos.

Además de su actividad enzimática, la CyPB es secretada extracelularmente, participando en procesos inflamatorios, tumorales y relacionados con la infección viral.

El grupo de Van Dijk y colaboradores⁶⁰ realizaron un análisis secuencial del gen *PPIB* en cuatro individuos provenientes de dos familias con diagnóstico prenatal de sospecha de OI en base a los hallazgos ecográficos intrauterinos. No se encontraron mutaciones en los genes *COL1A1/COL1A2* y *LEPRE1*.

En la primera familia fueron estudiados dos casos cuyos hallazgos clínicos y radiológicos eran compatibles con el diagnóstico de OI tipo IIB. En ambos la gestación fue interrumpida durante el 2º trimestre. La secuenciación del gen *PPIB* evidenció la presencia de una mutación en homocigosis (c.556_559 delAAGA) en el exon 5.

La segunda estaba formada por padres consanguíneos de origen pakistaní. A diferencia de la anterior, ambas gestaciones sí llegaron a término. El primer paciente, nacido a las 38 semanas presentó al nacimiento múltiples fracturas de huesos largos (detectadas ecográficamente en la semana 20 de gestación), macrocefalia con fontanela anterior amplia, escleróticas grises, caderas flexionadas y abducidas, incurvamiento del fémur y la tibia e hipermovilidad de las articulaciones, especialmente la de la cadera y la de los dedos.

El paciente fue diagnosticado de OI tipo III, iniciando a partir de las 2 semanas de vida tratamiento con pamidronato I.V. El desarrollo psicomotor del paciente fue

retrasado, permaneciendo libre de fracturas hasta los 3 años. No se observó aparición de DI. Desarrolló cifoesciosis evidente de la columna dorso lumbar, necesitando silla de ruedas desde los 7 años.

El segundo caso nació a las 37 semanas tras cesárea electiva. Al igual que su hermano la ecografía prenatal en la 20 semana mostró múltiples fracturas de huesos largos. Los hallazgos al nacimiento fueron: múltiples fracturas en huesos largos y costillas, macrocefalia con fontanela anterior amplia y cierto grado de aplanamiento occipital, ausencia de deformidad de la caja torácica y deformidad del fémur y la tibia (las piernas presentaban postura en abducción y cadera en posición de “rana”). Lo mismo que su hermano, se inició tratamiento postnatal con pamidronato I.V.

El análisis genético del gen *PPIB* evidenció la presencia de una mutación en homocigosis (c.451 C > T) en el exón 4.

E. GEN *SERPINH1*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO X

El grupo de Christiansen y colaboradores²⁴, fue el primero en describir un caso de OI causado por alteraciones en el gen *SERPINH1*. Se trató del primer hijo de una pareja consanguínea de Arabia Saudí. Durante el embarazo las ecografías mostraron las primeras alteraciones: fémures acortados, tórax pequeño e hipocogenicidad de la bóveda craneal.

El recién nacido presentaba una facies triangular, relativa macrocefalia, estrechamiento bitemporal, escleras azules, micrognatia, miembros acortados y arqueamiento de los muslos. La radiografía mostró unas costillas adelgazadas con signos de fracturas ya resueltas, una fractura en húmero derecho, otra ya consolidada en el izquierdo y una platiespondilia. A la semana de vida aparecieron lesiones ampollas cutáneas, cuya anatomía patológica no fue compatible con epidermolisis bullosa simple y que se resolvieron completamente sin volver a presentar nuevas lesiones.

Los autores no encontraron mutaciones en la secuenciación de los genes *COL1A1*, *COL1A2*, *CRTAP*, *FKBP10* y *LEPRE1*; sin embargo hallaron una mutación tipo “missense” (c.233T>C, p.Leu78Pro) en el gen *SERPINH1*.

El gen *SERPINH1* (11q13.5) codifica la proteína HSP47. Se trata de una proteína perteneciente a la super familia de las serpinas (proteínas inhibidoras de las serín proteasas), está localizada en el retículo endoplásmico y participa en la biosíntesis del colágeno actuando a modo de chaperona molecular.

F. GEN *FKBP10*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XI

El gen *FKBP10* (17q 21.2) es el responsable de codificar la enzima FKBP65, que cambia la configuración de los enlaces de Pro dentro de la cadena α de la molécula del colágeno, actuando como una chaperona molecular.

Alanay y colaboradores⁶¹ estudiaron a cinco familias con antecedentes de consanguinidad procedentes de ciudades limítrofes de la región del Mar Negro en la zona norte de Turquía. Todas ellas presentaban formas severas y progresivamente deformantes de OI, y además asociaban epidermólisis ampollosa simple en su forma autosómica recesiva, enfermedad producida por un defecto en la keratina 14.

Todos los individuos afectados presentaron al nacimiento un peso y una longitud normales, junto con ampollas en manos y pies que fueron evolucionando con el tiempo hacia lesiones bullosas generalizadas. Las fracturas óseas comenzaron en la infancia y condujeron al desarrollo de severas deformidades en las extremidades, abocándolos al uso de silla de ruedas desde su más temprana infancia. La evolución radiológica mostró una severa osteopenia y fracturas que condujeron a deformidades en los huesos largos y cifoescoliosis con aplanamiento y acuñaamiento vertebral. Ninguno de los individuos afectados presentó DI, sus escleróticas fueron grisáceas pero no azules y ninguno desarrolló defectos en la audición. Se encontró hiperlaxitud ligamentosa en dos sujetos y niveles elevados (entre 300 y 400 UI) de FA en otros dos.

Los autores también incluyeron en su estudio a una familia de origen mexicano, con una forma de OI severa y progresivamente deformante en tres de sus miembros de 12, 16 y 18 años de edad. Fueron incluidos ya que los estudios previos no detectaron mutaciones tras la secuenciación de *COL1A1*, *COL1A2*, *LEPRE1* y *CRTAP*. Ninguno de ellos asoció epidermólisis bullosa. Dos de los pacientes necesitaban silla de ruedas, y el tercero realizaba la deambulaci3n con ayuda. Todos ellos presentaron: talla inferior a percentil 5, tronco corto secundario a una severa cifoescoliosis, coxa vara, hiperlaxitud de articulaciones, especialmente en hombros y dedos. Ninguno presentó DI ni alteraciones de la audici3n. Como hallazgos radiol3gicos: acuñaamiento vertebral, huesos Wormianos, escoliosis y osteopenia.

Basándose en el hecho de que todos los miembros de las familias turcas presentaron una mutaci3n en el gen de la keratina 14 (*KRT14*) y que habían heredado de manera conjunta la epidermólisis y la osteogénesis, los autores plantearon la hip3tesis de que las regiones pr3ximas a *KRT14* podrían alojar genes implicados en el desarrollo de la OI. De tal modo identificaron una regi3n de 0,83Mb en la que se encontraron dos genes: *NKIRAS2* y *FKBP10*. El screening del primero no demostr3 alteraciones, sin embargo sí encontraron mutaciones en *FKBP10*. *KRT14* y *FKBP10* est3n separados entre sí por aproximadamente 230000 pares de bases. Los análisis mostraron que los pacientes de las familias turcas presentaban una mutaci3n en *FKBP10* que consistió en una delecci3n de 33 pares de bases (c.321_353del) que dio origen a una p3rdida de 11 amino3cidos en la mol3cula de la FKBP65.

En los pacientes de la familia mexicana tambi3n se encontr3 una mutaci3n en *FKBP10* (c.831_832insC) que daba origen a un cod3n de parada y por tanto daba lugar a un alelo nulo.

G. GEN *SP7*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XII

Lapunzina y colaboradores⁶² reportaron el caso de un niño Egípcio de 8 años de edad con OI, nacido de padres consanguíneos cuyas manifestaciones clínicas incluían: escleróticas normales, fracturas recurrentes, deformidades óseas leves, erupción dental tardía y audición normal. La familia tenía antecedentes de un hermano afectado de manera similar que, además de OI, fue diagnosticado de una enfermedad cardíaca congénita y falleció a la edad de 4 años a causa de una neumonía.

Los autores encontraron una delección homocigota en un único nucleótido (c.1052delA) en el último exón del gen *SP7/OSX*, que generaba un codón prematuro de parada. Los padres eran heterocigotos para dicha mutación.

El gen *SP7* se encuentra localizado en 12q13.13. Se expresa de manera específica en los osteoblastos corticales y trabeculares, así como en los condrocitos pre-hipertróficos de la placa de crecimiento. Este gen codifica un miembro de la subfamilia Sp de los factores de transcripción Sp / XKLF. Las proteínas de la familia Sp son proteínas de unión específica al ADN que se caracterizan por un dominio de transactivación amino-terminal y tres dedos de zinc carboxi-terminales. Esta proteína es un factor de transcripción específico del hueso y es necesario para la diferenciación de osteoblastos y la formación de hueso.

H. GEN *BMP1*: OSTEOGENÉISIS IMPERFECTA TIPO XIII

El gen *BMP1* (8p21.3), codifica la proteasa encargada de llevar a cabo el corte proteolítico del propéptido C-terminal del procolágeno I en el exterior celular (“proteína morfogénica ósea 1”), un proceso que es necesario para el correcto ensamblaje de las moléculas de colágeno en fibrillas y fibras.

En 2012 mediante análisis de homocigosidad Martínez-Glez y colaboradores⁶³ encontraron una sustitución de la Fenilalanina (Phe) 249 por Leucina (Leu) en una familia egipcia con dos niños diagnosticados de una forma recesiva y grave de OI; los dos presentaban numerosas fracturas, malformaciones óseas y hernias umbilicales.

Asharani y colaboradores⁶⁴ identificaron una sustitución de la Gly 12 por Arg en una familia turca, este cambio altera la composición del péptido señal requerido para que esta proteína pueda ser secretada al exterior de la célula. Es interesante que mientras la mutación Gly12Arg parece estar asociada a huesos con masa ósea anormalmente elevada, los dos hermanos egipcios con la mutación Phe249Leu presentaban un fenotipo aparentemente más grave y baja DMO. Se podría pensar que la diferente posición de las mutaciones, localizadas en distintos dominios de la proteína podría explicar los diferentes fenotipos en lo relativo a DMO, si bien podría simplemente tratarse de variaciones del fenotipo independientes del tipo de mutación, por lo que son necesarios más pacientes con mutaciones en este gen para poder llegar a una conclusión.

I. GEN *TMEM38B*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XIV

Descrita por Shaheen y colaboradores⁶⁵ en un grupo de pacientes procedentes de 3 familias consanguíneas de origen saudí con historia de fracturas recurrentes. Se trata de una variante de OI caracterizada por múltiples fracturas de distinta severidad, osteopenia, dentición, audición y escleras normales. Los autores identificaron en estos pacientes una delección a nivel del exón 4 del gen *TMEM38B*.

Posteriormente Volodarsky (2013) identificó la misma mutación en miembros de 3 familias beduínas israelíes no consanguíneas¹⁰².

J. GEN *WNT1*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XV

El Gen *WNT1*, codifica un ligando de la ruta de β -catenina, una vía de señalización celular que desde hace tiempo se sabe es fundamental para la diferenciación y actividad de los osteoblastos.

En 2013 varios grupos describen de manera simultánea mutaciones en este gen asociadas a pacientes con formas recesivas de OI^{66,67,103}, caracterizadas por fracturas recurrentes de comienzo precoz, reducción significativa de la DMO, talla baja y en algunos pacientes escleras azules. El desarrollo de la dentición y audición fue normal. Algunos pacientes mostraron retraso en el aprendizaje y desarrollo, así como anomalías cerebrales.

K. GEN *CREB3L1*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XVI

Fue descrita por primera vez por Symoens¹⁰⁴ en dos hermanos con OI precedentes de una familia turca. El primero de ellos presentó fracturas intraútero y fue pequeño para su edad gestacional. Continuó presentando fracturas tras el nacimiento y falleció a los 9 años de vida por problemas cardiorrespiratorios tras haber presentado varios episodios previos de bronconeumonía. El segundo hermano falleció en la semana 19 de gestación, presentando adelgazamiento de las costillas y fracturas humerales y femorales.

El estudio genético reveló una delección a nivel del gen *CREB3L1*, que es el responsable de codificar el factor de transcripción del retículo endoplásmico OASIS, que regula la expresión de procolágeno tipo I durante la formación ósea murina.

L. GEN *SPARC*: OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO XVII

En el año 2015 Mendoza-Londono y colaboradores¹⁰⁵ identifican en dos niñas previamente diagnosticadas de OI tipo V dos mutaciones en homocigosis a nivel del gen codificante de la proteína SPARC.

SPARC es una glicoproteína ácida rica en Cys que se une al colágeno tipo I, así como a otras proteínas de la matriz extracelular.

M. SÍNDROME DE BRUCK TIPO: GEN *FKBP10* Y *PLOD2*

El Síndrome de Bruck es un raro desorden del tejido conectivo considerado como una variante de OI. Su característica fundamental es la presencia de contracturas musculares a nivel de grandes articulaciones: rodillas, tobillos, hombros; asociadas a otras anomalías esqueléticas y fracturas óseas ante mínimos traumatismos.

Está producido por mutaciones bialélicas a nivel de dos genes: *FKBP10* (Bruck tipo I) y *PLOD2* (Bruck tipo II). Desde el punto de vista clínico ambas formas son indistinguibles¹⁰⁶.

El gen *FKBP10* (17q 21.2) es el responsable de codificar la enzima FKBP65, que actúa como una chaperona molecular en el plegamiento del procolágeno tipo I.

PLOD2 (3q24) es el responsable de codificar la enzima LH2, que hidroxila de manera específica las Lys de los telopéptidos del colágeno y por tanto participa en los procesos de entrecruzamiento de las fibrillas de colágeno en la matriz extracelular.

1.10.- TRATAMIENTO DE LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

En la actualidad la OI carece de un tratamiento curativo. Los tratamientos quirúrgicos, rehabilitador y farmacológico van dirigidos a mejorar en la medida de lo posible la calidad de vida de estos pacientes.

La complejidad de los síntomas de la OI exige un manejo multidisciplinar en el que participan todo un conjunto de especialistas: Otorrinolaringólogos (sordera), odontólogos (dentinogénesis), cardiólogo (problemas valvulares cardiacos), neumólogo (problemas restrictivos pulmonares), traumatólogo (fracturas), endocrinólogo, psicólogo etc. Cada paciente requerirá un tipo de cuidados distintos, dependiendo de la severidad de la enfermedad y el grado de afectación de cada persona.

El tratamiento de la OI se fundamenta en dos pilares fundamentales:

- Tratamiento médico: basado en el empleo de fármacos que buscan mejorar la calidad del hueso gracias al incremento de la DMO a través de fármacos inhibidores de la resorción ósea (bifosfonatos).
- Tratamiento quirúrgico/rehabilitador: corrección de deformidades óseas y tratamiento de sus fracturas.

1.10.1.- CIRUGÍA ORTOPÉDICA

Continúa siendo una piedra angular del tratamiento a largo plazo de la OI y es complementaria de la rehabilitación física.

Se basa en la realización de osteotomías de los huesos largos con colocación de clavos intramedulares. El objetivo principal es corregir la deformidad ósea y aumentar la resistencia mecánica del hueso al sumarle la del clavo, evitando la tendencia a la osteoporosis, a la deformidad progresiva y a las fracturas.

Actualmente los cirujanos tienen a su disposición 2 tipos de clavos telescópicos: los sistemas intramedulares telescópicos de Fassier-Dubal y los clavos intramedulares telescópicos de Sheffield. (Ilustración 1.13)

Los clavos de Fassier-Dubal tienen la ventaja de su colocación percutánea, minimizando el trauma, permitiendo la reparación de varios huesos en la misma sesión y realización posterior de una rehabilitación precoz¹⁰⁷. No obstante los clavos telescópicos tienen una alta incidencia de migración, quizás debido a la pobre calidad del hueso¹⁰⁸.

Otro tipo de dispositivo empleado son las agujas no expandibles de Kirchner, que se colocan en las OI graves con retraso de crecimiento.

El envejecimiento y la deambulación en los pacientes con OI contribuyen al desarrollo de osteoartritis. La artroplastia de rodilla y cadera son frecuentes en los pacientes adultos. Los mejores resultados son los obtenidos con prótesis customizadas en función de diseños asistidos por ordenador¹⁰⁹.

La escoliosis en la OI no es susceptible de refuerzos. La fusión espinal suele realizarse para estabilizar y corregir parcialmente curvas superiores a 50°. Los accesos estándar implican la fusión posterior mediante instrumentación Harrington o la corrección preoperatoria mediante tracción con halo seguida de fusión instrumental. Sin embargo, la laxitud de ligamentos espinales contribuye a la pérdida gradual de la corrección de la curva^{110,111}.

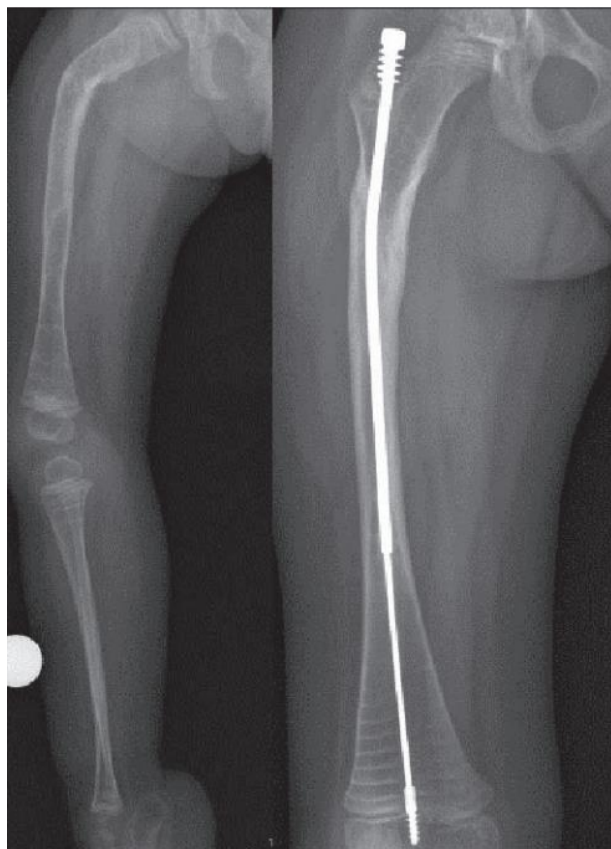


Ilustración 1.13.- Corrección de deformidad femoral tras la colocación de clavo intramedular tipo Fassier-Duval. Extraído de Gutiérrez Díez y colaboradores¹¹².

1.10.2.- REHABILITACIÓN Y TERAPIA FÍSICA

Su objetivo es implementar la función motora, especialmente importante durante la infancia. Los resultados de la rehabilitación mejor documentados, han sido en una serie pediátrica de OI holandesa⁸¹ durante un seguimiento a lo largo de 4 años de pacientes con OI de 5-19 años; observaron una disminución significativa del rango de movilidad articular en aquellos con OI tipo I, especialmente en los miembros inferiores, mientras que los tipos III y IV tenían limitaciones motoras más graves que no cambiaban con el tiempo. Los niños con OI tipo I no presentaban manifestaciones cardíacas o pulmonares en reposo, mientras que aquellos con Tipo III o IV tenían reducida la tolerancia al ejercicio así como la fuerza muscular, lo que contribuía a la mayor fatiga durante las actividades de la vida diaria. Los niños con OI tipo I y IV que participaban en programas de entrenamiento físico de baja resistencia, tenían un aumento del consumo pico de oxígeno, mayor fuerza muscular y capacidad después de 3 meses; pero estas mejorías disminuían 6 meses después de finalizado el programa, lo

que sugiere que el ejercicio regular con la intensidad correcta es fundamental para mejorar sus capacidades.

1.10.3.- TRATAMIENTO MÉDICO

En 1983 Baron y colaboradores¹¹³ ponen de manifiesto que en la OI está aumentado el recambio óseo junto a una disminución en la formación ósea.

Años más tarde los estudios histomorfométricos realizados por Glorieux demostraron que la OI se asocia a un aumento de la actividad osteoclástica y una reducción en la formación de hueso.

Por todo ello los tratamientos médicos se han dirigido a la búsqueda de fármacos que reduzcan la actividad osteoclástica y que favorezcan la formación de hueso.

A. FÁRMACOS EMPLEADOS PARA REDUCIR LA ACTIVIDAD OSTEOCLÁSTICA: BIFOSFONATOS

Los bifosfonatos (BF) fueron sintetizados en el siglo XIX (inicios de 1865) por químicos alemanes, los cuales buscaban prevenir el depósito industrial de carbonato de calcio en sus chimeneas.

En 1960 se introduce el primer BF en el mercado con fines terapéuticos. Se observó una gran afinidad de la droga por el tejido óseo, inhibiendo la conversión de fosfato de calcio amorfo a hidroxiapatita, lo cual reducía la velocidad de disolución de los cristales óseos.

En 1990 comienzan a ser empleados como alternativa a las terapias hormonales para el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica y/o ciertas patologías osteolíticas.

I. ESTRUCTURA QUÍMICA

Los BF son unos compuestos químicos sintéticos cuya estructura química deriva del pirofostato inorgánico ($P_2O_7^{4-}$). El anión pirofosfato (PPi) se forma a partir de la hidrólisis del ATP para formar AMP en la célula ($ATP \rightarrow AMP + PPi$).

En la década de los 60 Fleisch y colaboradores desarrollaron los primeros estudios que demostraban que el PPi era capaz de inhibir la calcificación al unirse a los cristales de hidroxiapatita; esto condujo a la hipótesis de que la regulación de los niveles de PPi podría ser el mecanismo mediante el cual el organismo regulaba la mineralización ósea y prevenía la calcificación de los tejidos blandos¹¹⁴⁻¹¹⁶.

Basándose en estos hallazgos se comprobó cómo la administración intravenosa de pirofosfato y polifosfatos eran capaces de inhibir las calcificaciones ectópicas, inducidas tras la administración de vitamina D3, a nivel de vasos sanguíneos, piel y riñones en animales de experimentación¹¹⁷. No obstante dicho efecto no se conseguía

tras su administración oral ya que tanto el PPi como los polifosfatos eran hidrolizados a nivel del tracto gastrointestinal.

La búsqueda de análogos químicos a los pirofosfatos que mantuviesen sus propiedades de antimineralización y fueran resistentes a la hidrólisis digestiva condujo al desarrollo de la estructura básica de la molécula de BF, que se basa en la sustitución del átomo central de oxígeno de la molécula de PPi por un átomo de carbono (Ilustración 1.14)

Al igual que el PPi, los primeros estudios con los BF demostraron que no sólo eran capaces de prevenir las calcificaciones ectópicas inducidas tanto in vitro como in vivo a nivel de números tejidos blandos, sino que a diferencia del PPi también poseían la capacidad de inhibir la mineralización cuando se administraban a ratas por vía oral (VO)¹¹⁸.

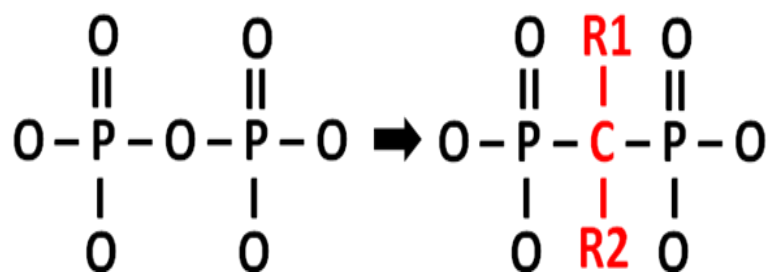


Ilustración 1.14.- Estructura básica de los bifosfonatos

En función de las diferentes cadenas que se adicionen a las dos valencias libres del carbono central se han ido obteniendo las sucesivas generaciones de BF (Ilustración 1.15) que han ido aumentando considerablemente su potencia antiresortiva.

De tal manera los BF de última generación (BF nitrogenados) poseen una potencia hasta 10.000 veces superior en su efecto inhibitorio de la resorción ósea.

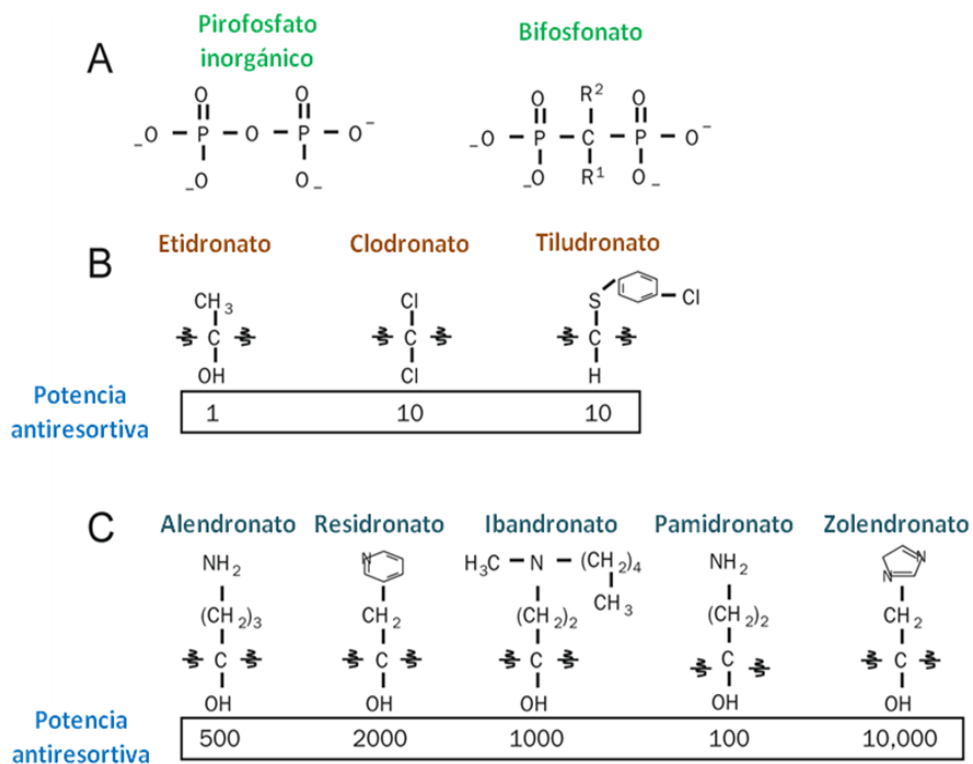


Ilustración 1.15.- Estructura de los bifosfonatos y su potencia antiresortiva relativa

II. FARMACOCINÉTICA

Los BF presentan una baja biodisponibilidad VO (1-2%), por lo que su vía de administración de elección es la intravenosa. Su vida media en el torrente sanguíneo es muy corta (30 minutos-2 horas) y aproximadamente el 50-60% de la dosis es incorporada al hueso.

Una vez alcanzan el tejido óseo tienen una alta afinidad por los cristales de hidroxiapatita. Los BF no depositados en el hueso son eliminados por vía renal.

Los BF son preferentemente incorporados en los sitios de remodelación ósea más activa, tal y como sucede en las situaciones de recambio óseo acelerado. Asimismo tienen más afinidad por el hueso trabecular.

Los BF pueden persistir durante más de 10 años en los tejidos esqueléticos, por lo que es crucial determinar la menor dosis acumulada efectiva para mejorar la geometría vertebral.

III. ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Dentro de las acciones farmacológicas de los BF tenemos:

- Inhibición de la calcificación
- Inhibición de la degradación de la hidroxiapatita, lo que conduce a una supresión de la resorción ósea

- Se ha sugerido que los BF puedan tener un papel en limitar la apoptosis de los osteocitos y los osteoblastos^{119,120}.
- Acciones a nivel del osteoclasto: inhiben la formación/reclutamiento de los osteoclastos por un mecanismo que impide su diferenciación, disminuyen su adhesión a la matriz ósea, reducen su vida media por aumento de la apoptosis, inhibición de su actividad: los BF penetran en el osteoclasto, probablemente por un mecanismo de picnocitosis o fagocitosis, afectando a multitud de procesos bioquímicos que conducen a una alteración del citoesqueleto, alteraciones morfológicas, disminución de la secreción de ácido y disminución de la actividad enzimática. Los BF se unen a los cristales de hidroxipatita y son absorbidos por los osteoclastos al remover la hidroxipatita gracias al medio ácido que los rodea. Una vez absorbidos los BF ejercen su acción en función de la naturaleza de las cadenas R1 y R2. Los de nueva generación interfieren en la cadena del ácido mevalónico e interfieren en la formación de geranyl-geranyl-P, lo que lleva a la apoptosis del osteoclasto.
- Acciones a nivel del osteoblasto: parecen inducir la síntesis por parte de los osteoblastos de un factor soluble que inhibe directamente la función de los osteoclastos y sus precursores.

IV. USO DE LOS BIFOSFONATOS EN LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

Basándose en el hecho de que en la OI está incrementado el recambio o turnover óseo, en 1987 Devogelaer y colaboradores¹²¹ tratan por primera vez a un niño con OI empleando pamidronato disódico por VO.

Años más tarde los estudios histomorfométricos realizados por Glorieux¹²² demostraron que la OI se asocia al aumento de la actividad osteoclástica, hecho posteriormente confirmado por otros autores. De estos hallazgos se deducirían dos opciones terapéuticas: reducir la actividad osteoclástica y favorecer la formación ósea.

En los últimos años se está utilizando en los niños zolendronato IV¹²³⁻¹²⁵, BF que presenta varias ventajas sobre el pamidronato: al ser más potente se necesita menos dosis y su efecto es más duradero, lo cual permite alargar el intervalo de tiempo entre los ciclos, administrarse en única dosis por ciclo y en menor tiempo.

Los BF han demostrado poseer efectos positivos sobre la histología del hueso que incluyen desde un aumento del número de trabéculas y engrosamiento cortical, hasta un aumento de los z-scores vertebrales en la densitometría ósea. Los estudios en niños han demostrado que las ganancias son máximas en los 2-4 primeros años del tratamiento. Los estudios controlados demuestran que los BF mejoran la geometría vertebral; pero no se ha demostrado disminución de fracturas en los huesos largos, incluso en ensayos con más de 125 niños.

Estudios en ratones y en humanos han mostrado cierta preocupación por las altas dosis acumuladas en el hueso, la alteración de la remodelación ósea, la disminución de

la calidad material del hueso, la mineralización y la alteración de las células óseas, sin embargo la osteonecrosis de la mandíbula no ha sido demostrada en pacientes con OI.

Los efectos secundarios del tratamiento con pamidronato en general son leves y pasajeros, el más frecuente es un cuadro pseudogripal durante la administración del primer ciclo. En los lactantes se puede añadir un componente de broncoespasmo. La hipocalcemia asintomática es también frecuente en cualquiera de los ciclos. Otros efectos descritos son la aparición de dolor en la zona de la administración por flebitis y la gastroenteritis, sobre todo en el primer ciclo¹²⁶.

B. INHIBIDORES DEL RANKL

Actualmente dentro del grupo de fármacos con capacidad para reducir la actividad osteoclástica ha comenzado a emplearse el anticuerpo monoclonal Denosumab en el tratamiento de la OI tipo VI.

El Denosumab es un anticuerpo monoclonal que se une al RANKL, impidiendo la activación de su receptor RANK, presente en la superficie de los osteoclastos y otras células inmunitarias, esta unión inhibe la formación, función y supervivencia del osteoclasto, lo que lleva a una disminución de la resorción ósea en el hueso cortical y trabecular.

El grupo del Dr. Semler¹²⁷ publicó en 2012 su experiencia en el tratamiento de 4 niños con OI tipo VI con una pobre respuesta a los BF. Se administró Denosumab por vía subcutánea a dosis de 1 mg/kg, con ciclos cada 3 meses. A las 36 horas de su administración, se comenzó a suministrar v.o. suplementos de calcio (750 mg/día) y vitamina D (500 UI/día) durante 2 semanas. Ninguno mostró síntomas de hipocalcemia.

Los motivos de la no respuesta a BF podrían estar relacionados con el hecho de que los BF están ligados a la superficie ósea mineralizada e inducen la apoptosis de los osteoclastos en el momento de la resorción. El aumento de la cantidad de osteoide no mineralizado en pacientes con OI-VI posiblemente dificulte la capacidad de los bisfosfonatos para ligarse al hueso y, por ello, reduce su toxicidad para los osteoclastos.

Recientemente este mismo grupo de autores ha publicado un nuevo ensayo¹²⁸ de este fármaco en 10 pacientes con diagnóstico de OI asociada a mutaciones en *COL1A1* y *COL1A2*, observando mejorías significativas en la densidad mineral ósea tras 48 semanas de tratamiento.

C. FÁRMACOS FAVORECEDORES DE LA FORMACIÓN ÓSEA

Dentro de este grupo de fármacos se encontraría la PTH, que no está indicada en niños, y sobre todo la hormona de crecimiento (GH).

Actualmente el uso de GH asociado a los BF parece estar en discusión ya que aumenta el remodelado óseo, algo que ya se encuentra incrementado en estos niños por su propia enfermedad.

D. FUTUROS TRATAMIENTOS

I. INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA CATEPSINA K

La cathepsina K es una cisteinoproteasa lisosomal expresada de forma específica en los osteoclastos. Constituye la enzima proteolítica más abundante del osteoclasto y su función principal es degradar el colágeno tipo I en las regiones helicoidal y telopeptídica tanto a pH ácido como neutro (actividad colagenasa), por lo que posee una función esencial en el remodelado óseo.

Odanacatib es un inhibidor selectivo de la cathepsina K que podría ser una futura opción terapéutica en procesos que cursan con un aumento de la resorción ósea¹²⁹.

II. INHIBIDORES DE LA ESCLEROSTINA

La esclerostina es una glucoproteína cuya síntesis está codificada por el gen SOST. Es sintetizada por los algunos osteocitos y actúa a modo de señal de retroalimentación para prevenir la sobrecarga de las unidades de remodelado¹³⁰.

En estudios preclínicos, los anticuerpos monoclonales frente a esclerostina han demostrado producir un incremento de la densidad mineral ósea, el volumen y la resistencia ósea en modelos de ratas ovariectomizadas¹³¹ y primates¹³².

Recientemente han comenzado a desarrollarse ensayos clínicos con el objetivo de aumentar la masa ósea empleando anticuerpos monoclonales anti-esclerostina (romosozumab, blosozumab) en mujeres postmenopáusicas con y sin osteoporosis^{133,134}.

III. TERAPIA CELULAR

Las células madre mesenquimales son células pluripotenciales que pueden diferenciarse a osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Pueden obtenerse a partir de distintos tejidos del individuo y ser expandidas in vitro. Son muy poco inmunogénicas y muestran una especial capacidad de migración hacia los tejidos dañados.

En Abril de 2014 se inició en el Hospital Universitario de Cruces (Barakaldo) la primera terapia avanzada con células madre de España (ensayo clínico TERCELO). Uno de los participantes en este ensayo pertenece al grupo de pacientes seguidos en la actualidad en la unidad de OI de HUG. Las células mesenquimales se han obtenido de la médula ósea de un gemelo HLA idéntico, y tras ser diferenciadas hacia osteoblastos se le administra al paciente por vía intravenosa (IV).

IV. INHIBIDORES DE LA SEROTONINA

Recientemente investigadores del Centro Médico de la Universidad de Columbia trataron a ratones y ratas con un medicamento experimental de administración oral que inhibía la enzima inicial de la biosíntesis de la serotonina derivada del intestino. Los autores pudieron revertir la pérdida ósea y en esencia curar la osteoporosis de los animales¹³⁵.

CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1.- HIPÓTESIS

- En los pacientes con OI tipos I, III y IV portadores de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, existe una correlación entre el fenotipo y el tipo de mutación que padecen.
- Los cambios en los marcadores analíticos de resorción ósea tras la infusión intravenosa de pamidronato en los pacientes con OI portadores de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, son independientes del genotipo identificado.

2.2.- OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar si el genotipo de los pacientes con OI tipos I, III y IV se relaciona con modificaciones en la respuesta del recambio óseo y del metabolismo fosfocálcico tras tratamiento con Pamidronato intravenoso.

2.3.- OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Describir las mutaciones sobre los genes *COL1A1* y *COL1A2* en los pacientes diagnosticados clínicamente de OI tipos I-IV de Sillence que fueron controlados en el Hospital Universitario de Getafe durante los años 2010 y 2011.
- Describir la correlación genotipo-fenotipo en los pacientes diagnosticados clínicamente de OI tipos I, III y IV con estudio genético positivo para *COL1A1* y *COL1A2*, en el momento de la transferencia al Servicio de Endocrinología de adultos desde la Unidad de OI del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario de Getafe (Madrid).

CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio descriptivo, observacional y retrospectivo de los cambios en los marcadores analíticos de resorción ósea observados tras la infusión intravenosa de pamidronato en pacientes con OI portadores de mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, así como de la correlación entre el fenotipo y el tipo de mutación que padecen.

3.2.- POBLACIÓN ESTUDIADA

3.2.1.- TAMAÑO DE LA MUESTRA

Fueron incluidos en el estudio un total de 87 pacientes que se encontraban en seguimiento por la consulta de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitario de Getafe (HUG) durante el año 2010.

Se seleccionaron 23 pacientes, que cumplieron los criterios de inclusión.

3.2.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Inicio y/o mantenimiento de tratamiento con pamidronato durante los años 2010-2011.
- Estudio genético positivo para mutaciones en los genes *COL1A1* ó *COL1A2*.
- Haber alcanzado su talla final durante los 5 años posteriores: de 2012 a 2016. El criterio empleado para definir talla final consiste en objetivar una ausencia total de crecimiento durante un periodo continuado de 12 meses.

3.2.3.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Estudio genético negativo para mutaciones en los genes *COL1A1* ó *COL1A2*.
- Estudio genético positivo para mutaciones en los genes codificantes de formas recesivas de OI.
- Ausencia de estudio genético (no realizado o pendiente de resultado).
- No haber alcanzado su talla final durante los 5 años posteriores a 2011.

3.3.- PROTOCOLO DE ESTUDIO

3.3.1.- EVALUACIÓN DE LAS ALTERACIONES ANALÍTICAS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO TRAS LA INFUSIÓN IV DE PAMIDRONATO

En el año 2010, el protocolo de tratamiento con BF empleado en HUG (adaptado de H. Plotkin y K. Rossiter) consistía en la administración por vía IV de pamidronato durante 48 horas. La dosis empleada de BF fue la siguiente:

- Menor de 2 años: 0,37 mg/Kg/dosis.
- De 2 a 3 años: 0,56 mg/Kg/dosis.
- Mayores de 3 años: 0,75 mg /Kg/dosis.

En la primera dosis de pamidronato, la dosis administrada durante el primer día del primer ciclo fue el 50%. La dosis máxima diaria fue 45 mg. Cada dosis de pamidronato se administró por vía IV durante 3,3 horas, diluido en suero salino fisiológico 0,9% (SSF). (Tabla 3.1)

Tabla 3.1.- Protocolo de dilución de Pamidronato

Dosis pamidronato (mg)	Volumen SSF (cc)	Ritmo de infusión (cc/h)
0-5	50	15
5,1 -10	100	30
10,1 – 15	150	45
15,1 – 25	250	75
25,1 – 45	500	150

La frecuencia de administración de los ciclos fue dependiente de la edad del paciente:

- Los 2 primeros años de vida: cada 2 meses.
- De los 2 a 3 años: cada 3 meses.
- A partir de los 3 años: cada 4 meses.

Administrado de forma conjunta con pamidronato, cada paciente recibió:

- Vitamina D: 400 UI/día durante el ciclo.
- Calcio: una dosis diaria durante el ciclo, según edad y calcemia pre tratamiento, administrada por VO (menores de 4 años: 500 mg, y mayores de 4 años: 1000 mg).

Mediante extracción de analítica sanguínea y de orina, previa a la infusión del pamidronato y tras su finalización, analizamos las alteraciones analíticas a nivel del

metabolismo fosfocálcico y marcadores de resorción ósea. Fueron analizadas las siguientes determinaciones (Tabla 3.2):

- Función renal: creatinina plasmática (Cr) y cistatina C.
- β -CTX en sangre.
- Calcio (Ca) total e iónico, fósforo (P) y PTH intacta (PTHi) en sangre.
- Cálculo de los cocientes urinarios: calcio/creatinina (Ca^{++}/Cr) y fósforo/creatinina (P/Cr).

La determinación de β -CTX en sangre fue realizada en el laboratorio del Hospital La Princesa de Madrid mediante técnica de inmunoensayo automatizado tipo sandwich (ECLIA, Elecsys Roche Diagnostic) de quimioluminiscencia empleando anticuerpos monoclonales dirigidos contra el octapéptido EKAHD- β -GGR del fragmento C-terminal del colágeno tipo I.

Tabla 3.2.- Métodos de laboratorio empleados en el estudio del metabolismo fosfocálcico

Parámetro	Método	Analizador	Casa Comercial
Ca total (suero y orina)	Colorimétrico: O-cresoftaleína complexona	Dimension VISTA	SIEMENS
P (suero y orina)	Colorimétrico: Fosfomolibdato a 340 nm - Dimension Vista	Dimension VISTA	SIEMENS
Cr (suero y orina)	Colorimétrico: Picrato alcalino cinético compensado - Dimension (CRE2)	Dimension VISTA	SIEMENS
FA (suero)	Colorimétrico: Substrato 4-nitrofenilfosfato con tampón AMP (2-amino-2-metil- 1-propanol) - Dimension Vista (ALPI)	Dimension VISTA	SIEMENS
PTH intacta (suero)	Inmunoensayo tipo sándwich a dos puntos que utiliza tecnología quimioluminométrica directa	Centauro XP	SIEMENS
Ca iónico (sangre total)	Electrodo selectivo	Gasómetro ABL90FLEX	RADIOMETER
Cistatina C (suero)	Inmunonefelometría	Nefelómetro BN Prospec	SIEMENS

3.3.2.- ESTUDIO GENÉTICO

El estudio genético se realizó en colaboración con el Centro de Análisis genéticos C.A.G.T. (Zaragoza) y Sistemas Genómicos (Valencia).

La extracción y purificación de ADN genómico se efectuó a partir de muestras de sangre periférica.

Se realizó amplificación específica, mediante PCR de los distintos exones de los genes *COL1A1* y *COL1A2*, posterior purificación y secuenciación directa en doble cadena de los fragmentos de PCR obtenidos y análisis bioinformático y comparación de las secuencias obtenidas frente a la secuencia de referencia del gen *COL1A1* (NM_000088.3) o *COL1A2* (NM_000089.3). En algunas muestras se realizó un screening mediante análisis de heteroduplex (CSGE) y secuenciación bidireccional de los fragmentos anómalos.

3.3.3.- CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN EL MOMENTO DE LA CONSECUCIÓN DE LA TALLA FINAL

En el grupo pacientes con estudio genético positivo para mutaciones en *COL1A1* y *COL1A2*, que alcanzaron su TF durante los años 2012-2016, se efectuará una correlación entre el genotipo y el fenotipo. Serán analizadas las siguientes variables:

- Edad de inicio del tratamiento con BF.
- Número total de fracturas al alta.
- Descripción de la primera fractura.
- Descripción de las fracturas previas al inicio del tratamiento con BF.
- Rasgos físicos de OI: DI, coloración de escleróticas y morfología facial.
- Manifestaciones esqueléticas: alteraciones en la base del cráneo (observadas en resonancia magnética nuclear (RMN) en el momento del alta) y presencia de escoliosis.
- Manifestaciones extra esqueléticas: valoración otorrinolaringológica y cardiológica al alta.
- Antropometría al nacimiento: peso de recién nacido (PRN), longitud de recién nacido (LRN).
- Evaluación antropométrica al alta: TF alcanzada y su correlación con la talla diana (TD).
- DMO en el momento del alta: estudio de z-score L2-L3-L4.

La valoración de los datos antropométricos se ha basado en el empleo de las tablas del Estudio Transversal de Crecimiento 2008 validadas para niños

Espanoles^{136,137}. En el 100% de los casos, la medición de la talla se realizó en bipedestación, usando un estadiómetro Harpenden®.

La determinación de DMO se efectuó mediante absorciometría de rayos X de doble energía (DEXA), realizada con la colaboración del Servicio de Radiología del Hospital Universitario Santa Cristina de Madrid (Hologic DEXA Bone Densitometer®).

3.4.- METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Para el estudio descriptivo de la muestra, las variables cualitativas han sido expresadas en forma de frecuencias absolutas y porcentajes. En el caso de las variables cuantitativas se ha utilizado como medida de tendencia central la media, y como medida de dispersión la desviación típica.

Se ha comprobado el supuesto de normalidad para todas las variables del estudio mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

Para efectuar los contrastes de hipótesis se han utilizado los test no paramétricos: test de Wilcoxon para variables cuantitativas; test de correlación de Spearman para el análisis de correlación lineal entre variables cuantitativas; test de U-Mann Whitney para comparar variables cualitativas dicotómicas con cuantitativas y test de Kruskal Wallis para comparar variables cualitativas nominales con variables cuantitativas.

Empleamos el test de la Chi cuadrado de Pearson y test exacto de Fisher para la comparación estadística entre las variables cualitativas de distribución normal. Para la comparación de medias pareadas se recurrió a la prueba de la «t» de Student para datos apareados. En todos los casos el nivel de significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

Para la realización del análisis estadístico de las diferencias observadas en las determinaciones analíticas pre y post administración de los ciclos de pamidronato se empleó un modelo de regresión con efectos mixtos (Mixed Model Analysis) para controlar las medidas repetidas (ciclos) en los pacientes.

Se ha usado el número de ciclos administrados durante el periodo de observación como factor de medidas repetidas, el tipo de mutación (*COL1A1* sin codón de parada, *COL1A1* con codón de parada y mutación en *COL1A2*) como factor independiente, y el valor basal o pre ciclo de cada parámetro como covariante.

En las comparaciones “post-hoc” entre los 3 grupos de mutaciones se ha empleado el método de Bonferroni.

El tratamiento y análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa de análisis estadístico SPSS (*Statistical Package of Social Sciences*) versión 20.0 para Windows, y contó con la colaboración de la Sección de Bioestadística del Hospital La Paz (Madrid).

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

4.1.- RESULTADOS GENERALES

Durante los años 2010 y 2011, 87 pacientes diagnosticados de OI eran controlados en la Unidad de OI del Servicio de Pediatría del HUG.

De ellos, 59 (67,8%) recibían tratamiento de forma periódica con BF y 28 (32,1%) eran controlados de manera semestral o anual sin tratamiento.

Se seleccionaron para el estudio aquellos pacientes tratados con BF que completaron su crecimiento, en total 23 pacientes (12 hombres y 11 mujeres).

Los pacientes fueron clasificados siguiendo la clasificación de Sillence. (Ilustración 4.1)

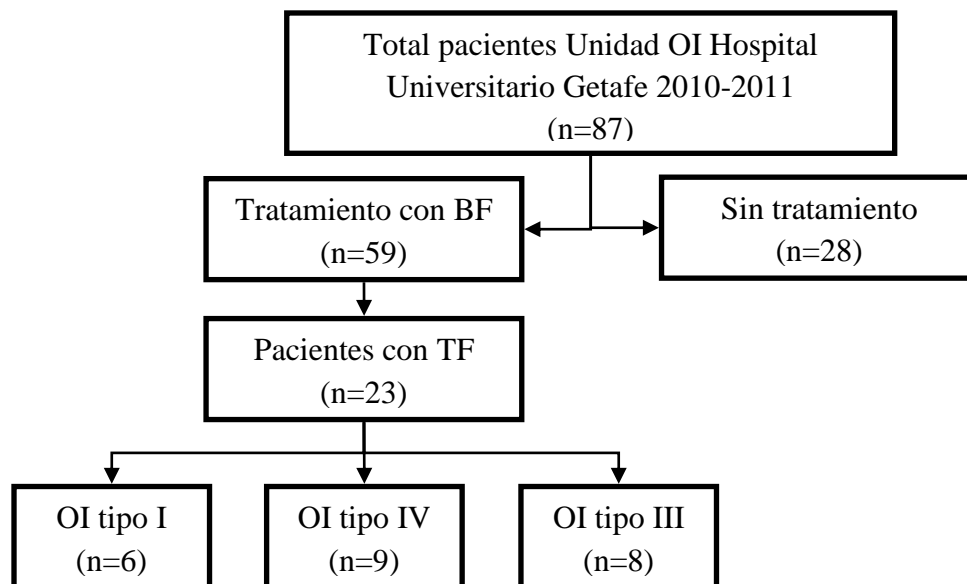


Ilustración 4.1.- Distribución de los pacientes

4.2.- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

4.2.1.-NACIONALIDAD

Nuestra muestra está constituida mayoritariamente por pacientes de nacionalidad y ascendencia española, no obstante también contamos con niños de otras etnias:

- Europea: 18 pacientes de nacionalidad española, uno nacido en Rumanía y uno nacido en Dinamarca. Total: 20 pacientes.
- Asiática: 1 paciente nacido en Rusia.
- Africana: 1 paciente nacido en Camerún.
- Sudamericana: 1 paciente nacido en Paraguay.

4.2.2.- DISTRIBUCIÓN POR SEXO

La proporción de hombres y mujeres de nuestra muestra fue muy similar:

- Hombres: 12 pacientes (52,1%).
- Mujeres: 11 pacientes (47.8%).

Se ha analizado la relación entre las variables sexo, tipo de OI y tipo de mutación, sin encontrar diferencias significativas.

4.2.3.- ANTECEDENTES FAMILIARES DE OI

El 52,1% de los pacientes de nuestra muestra (12 casos) no presentaban antecedentes parentales de OI.

En 10 casos (4 pacientes con mutación en *COL1A1* y 6 en *COL1A2*) uno de los dos progenitores también padecía la enfermedad, en 6 ocasiones la mutación fue heredada de la madre y en 4 del padre. En la tabla 4.1 se describen las características de los padres portadores de la enfermedad.

El paciente restante se trató de un varón adoptado de nacionalidad rusa, de cual se desconocían sus antecedentes familiares.

Tabla 4.1- Características clínicas de los padres con OI

Padres portadores de mutación en gen <i>COL1A1</i>			
Tipo de progenitor	Mutación	Rasgos OI	Historial clínico
Madre	c.2037_2038del	Hipoacusia	8-9 fracturas Dolores óseos
Padre	c.386delC	Hipoacusia	Aplastamientos vertebrales
Padre	c.386delC	Hipoacusia	Aplastamientos vertebrales
Madre	c.358delC	Hipoacusia	10-12 fracturas
Padres portadores de mutación en gen <i>COL1A2</i>			
Padre	c.902G>T	**	**
Padre	c.857G>C	Hipoacusia, DI	40 fracturas
Madre	c.382C>T	**	**
Madre	c.3527-1G>C	**	Silla de ruedas
Madre	c.2260G>A	**	Osteoporosis. Fractura de muñeca y clavícula
Madre	c.946G>A	Escleras azules, DI	**

(**) Dato desconocido. DI: Dentinogénesis imperfecta. OI: Osteogénesis imperfecta

4.3.- ESTUDIO GENÉTICO

Tras la realización del estudio genético fueron identificadas 23 mutaciones, 12 de ellas de novo (8 en *COL1A1* y 4 en *COL1A2*), 10 casos familiares (4 en *COL1A1* y 6 en *COL1A2*), y un paciente adoptado, del cual se desconocían sus antecedentes familiares.

En base a su ausencia en la Osteogenesis Imperfecta Variant Database, a fecha 9 de febrero de 2017, un total de 6 mutaciones no habían sido descritas en la literatura: 2 en *COL1A1* (https://oi.gene.le.ac.uk/home.php?select_db=COL1A1) y 4 en *COL1A2* (https://oi.gene.le.ac.uk/home.php?select_db=COL1A2).

El 95,6% de las mutaciones (22 casos) fueron diferentes entre sí, únicamente en dos pacientes (primos hermanos) fue identificada la misma mutación a nivel del gen *COL1A1*: c.386delC.

Un 56,5% de las mutaciones (13 pacientes) fueron identificadas en el gen *COL1A1* y el 43,5% (10 pacientes) en *COL1A2*.

El tipo de mutación más frecuente fue la sustitución, con 17 casos (73,9%). Se identificaron 5 deleciones (21,7%), y una inserción (4,3%).

4.3.1.- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES EN *COL1A1*

Trece pacientes (56,5%) presentaron mutaciones en el gen *COL1A1*. El 53,8% fueron de tipo sustitución (7 casos: 6 cambio de sentido o *missense* y un codón de parada), un 38,4% de tipo deleción (5 casos) y un caso de inserción (7,6%). (Tabla 4.2)

En 5 casos (46,1%), la mutación dio lugar a un cambio en el marco de lectura o *frameshift*, dando lugar a una proteína de menor tamaño o proteína truncada. De ellos,

cuatro pacientes (66,6%) presentaron delecciones a nivel de los exones 4, 31 y 5: c.358delC, c.2037-2038del y c.386delC respectivamente, siendo esta última mutación compartida por dos pacientes emparentados entre sí (primos hermanos). Un paciente presentó una inserción a nivel del exón 17, que condicionó la duplicación de una citosina en la posición 1127 (c.1127dupC), dando lugar a un cambio en el marco de lectura y la aparición de un codón de parada prematuro 15 aminoácidos después del aminoácido 377. Sólo un paciente presentó una variante *nonsense*, la variante c.1081C>T da lugar al cambio del aminoácido Arg en la posición 361 por un codón de parada (p.Arg361*)

El 100% de los casos fueron mutaciones exónicas, localizándose a nivel de 10 exones diferentes de la secuencia de ADN: 4, 5, 9, 17, 19, 24, 31, 32, 36 y 48. En 6 casos las mutaciones se produjeron en un mismo exón: 2 a nivel del exón 5 (c.386delC), 2 en el exón 17 (c.1081C>T y c.1127dupC) y 2 en el exón 31 (c.2101G>T y c.2037_2038del).

Los 6 casos de mutaciones de cambio de sentido o *missense* tuvieron como consecuencia diferentes cambios en la secuencia de aminoácidos de la cadena $\alpha 1$. En 5 pacientes tuvo lugar una sustitución, siendo el aminoácido sustituido la Gly en 5 pacientes y la Pro en el caso restante (p.Pro412Arg). En un paciente, portador de la delección c.1622_1630del, dio lugar a la eliminación del triplete Gly-X-Pro en la posición 542-545. La variante p.Arg361* da lugar a una proteína truncada, al igual que las *frameshift*.

Tabla 4.2.- Mutaciones a nivel de *COL1A1* (n=13)

Cambio ADN	Localización	Tipo de mutación	Efecto	Proteína
c.2101G>T	Exón 31	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly701Cys
c.1626_1634del	Exón 24	Delección	Delección	p.Gly546_ Pro548del
c.1235C>G	Exón 19	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Pro412Arg
c.2498G>C	Exón 36	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly833Ala
c.671G>A	Exón 9	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly224Asp
c.3505G>A	Exón 48	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly1169Ser
c.2155G>A	Exón 32	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly719Ser
c.1127dupC	Exón 17	Inserción	<i>Frameshift</i>	p.Gly 377Trpfs*15
c.1081C>T	Exón 17	Sustitución	<i>Nonsense</i>	p.Arg361*
c.386delC	Exón 5	Delección	<i>Frameshift</i>	p.Pro129Leufs*136
c.2037_2038del	Exón 31	Delección	<i>Frameshift</i>	p.Gly680Phefs*29
c.386delC	Exón 5	Delección	<i>Frameshift</i>	p.Pro129Leufs*136
c.358delC	Exón 4	Delección	<i>Frameshift</i>	p.Arg120Glufs*145

4.3.2.- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS MUTACIONES EN *COL1A2*

Diez pacientes (43,4%) presentaron mutaciones a nivel del gen *COL1A2*. El 100% fueron de tipo sustitución, y en ninguno de los casos dio lugar a la aparición de un codón de parada o a un cambio en el marco de lectura y la consiguiente proteína truncada. (Tabla 4.3)

El 90% (9 casos) fueron mutaciones exónicas, localizándose a nivel de 8 exones diferentes de la secuencia de ADN: 9, 17, 18, 19, 21, 25, 37 y 46. Solo 2 mutaciones (c.1009G>A y c.946G>A) se produjeron en un mismo exón (exón 19). Encontramos una única mutación a nivel de una región conservadora de splicing (c.3527-1G>C).

Los 9 casos de mutaciones exónicas tuvieron como consecuencia un cambio en la secuencia de aminoácidos sobre la cadena $\alpha 2$. En el 100% el aminoácido sustituido fue la Gly, siendo reemplazado en el 50% casos por una Ser.

Tabla 4.3- Mutaciones a nivel de *COL1A2* (n=10)

Cambio ADN	Localización	Tipo de mutación	Efecto	Proteína
c.3034G>A	Exón 46	Sustitución	<i>Missense</i>	p.Gly1012Ser
c.1135G>A	Exón 21	Sustitución	Missense	p.Gly379Arg
c.1009G>A	Exón 19	Sustitución	Missense	p.Gly337Ser
c.1478G>A	Exón 25	Sustitución	Missense	p.Gly493Glu
c.902G>T	Exón 18	Sustitución	Missense	p.Gly301Val
c.857G>C	Exón 17	Sustitución	Missense	p.Gly286Ala
c.382C>T	Exón 9	Sustitución	Missense	p.Gly128Ser
c.3527-1G>C	Intrón (sitio de splicing)	Sustitución	<i>Splicing</i>	
c.2260G>A	Exón 37	Sustitución	Missense	p.Gly754Ser
c.946G>A	Exón 19	Sustitución	Missense	p.Gly316Ser

4.4.- ESTUDIO DE LA RELACIÓN METABOLISMO FOSFOCÁLCICO Y GENOTIPO

4.4.1.- TRATAMIENTO CON PAMIDRONATO

Durante el periodo de estudio 4 pacientes portadores de mutación a nivel de *COL1A1* comenzaron a recibir su tratamiento con pamidronato IV. Dos de ellos eran portadores de mutaciones helicoidales (c.1235C>G y c.3505G>A), ambos estaban diagnosticados de OI tipo III e iniciaron su tratamiento a los 12,3 y 11,5 años respectivamente. Los otros dos pacientes pertenecen al grupo con codón de parada (c.2037_2038del y c.358delC), tenían OI tipo I y empezaron su tratamiento con 13,1 y 12,8 años.

El resto (19 pacientes: 8 diagnosticados de OI tipo IV, 7 de OI tipo III y 4 de OI tipo I) ya habían iniciado previamente el tratamiento con bifosfonatos, habiendo recibido un media de 16,4 ciclos (rango: 6-31) antes de 2010.

Durante los dos años analizados cada paciente recibió una media de 5,4 ciclos de pamidronato IV. A 18 (78,2%) se les administró 6 ciclos completos; uno recibió 5 ciclos, dos pacientes 4, uno 3 ciclos y finalmente al caso restante 2 ciclos.

4.4.2.- ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN *COL1A1*: 13 PACIENTES

El grupo de pacientes portadores de mutación en *COL1A1* estuvo formado por 7 mujeres y 6 hombres. En total 7 pacientes eran portadores de mutación no asociada a codón de parada y 6 sí asociada a codón de parada.

En el grupo de pacientes no portadores de codón de parada hubo dos niños que recibieron tratamiento con BF por primera vez a lo largo del período de estudio, ambos estaban diagnosticados de OI tipo III. La primera paciente fue una niña procedente de Rumanía, de la cual se desconocía su número previo de fracturas; era portadora de la mutación c.1235C>G y comenzó a tratarse a los 12,3 años. El segundo paciente, un varón portador de la mutación c.3505G>A, que refería un total de 3 fracturas pre tratamiento, y que comenzó su tratamiento en nuestro hospital a los 11,5 años. Los 5 pacientes restantes (4 diagnosticados de OI tipo III y uno de OI tipo IV) ya habían recibido tratamiento con BF previamente, en concreto una media total de 21 ciclos (rango: 6-29).

En cuanto al grupo de pacientes portadores de codón de parada, se incluyeron a dos pacientes diagnosticados de OI tipo I que iniciaron tratamiento en el HUG a lo largo del año 2010. El primer paciente, un varón portador de la mutación c.2037_2038del, comenzó su tratamiento a los 13,1 años y refería un total de 3 fracturas. El segundo paciente, también varón y portador de la mutación c.358delC comenzó su tratamiento a los 12,8 años y también refería un total de 3 fracturas. Los 4 pacientes restantes (todos diagnosticados de OI tipo I) ya habían recibido tratamiento con BF previamente, en concreto una media total de 13,2 ciclos (rango: 11-17).

E. ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN RENAL PRE TRATAMIENTO

La función renal preciclo fue normal en el 100% de los pacientes: el valor medio de Cr en sangre fue de 0,51 mg/dL (rango: 0,36-0,64 mg/dL) y el de cistatina C 0,7 mg/L (rango: 0,39-1,12 mg/L)

Ambas determinaciones fueron muy similares tanto en el grupo de pacientes con codón de parada como sin codón de parada (Tabla 4.4).

Tabla 4.4- Función renal pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en *COL1A1* (n=13)

Tipo de mutación	Cr media (mg/dL)	Cistina C media (mg/L)	Total pacientes
Grupo sin codón de parada	0,51	0,7	7
Grupo codón de parada	0,52	0,71	6

Rangos de normalidad: Cr 0,3-0,8 mg/dL, cistatina C 0,62-1,11 mg/L

F. ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO PRE TRATAMIENTO

V. FOSFATASA ALCALINA

La cifra media de FA previa al tratamiento fue de 230,6 U/L (rango: 107-373 U/L), observando valores superiores dentro del grupo de pacientes portadores de codón

de parada (media: 272,7 U/L, rango: 194-373) con respecto al grupo no codón de parada (media: 192 U/L, rango: 107-288), encontrándose en ambos casos dentro de los límites de la normalidad. Los niveles de FA más elevados fueron observados en un paciente portador de la mutación c.2037-2038del (FA media: 351,7 U/L), responsable de codón de parada. (Tabla 4.5).

Tabla 4.5.- Valores medios de FA pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en *COL1A1* (n=13)

Nº paciente	Nº de ciclos analizados	FA media U/L	Tipo OI	Mutación
Grupo de pacientes sin codón de parada (n=7)				
1	6	242,6	3	c.2101G>T
2	6	164,3	3	c.1622_1630del
3	2	126,5	3	c.1235C>G
4	6	275	3	c.2498G>C
5	6	126,5	3	c.671G>A
6	3	216,6	3	c.3505G>A
7	6	176,5	4	c.2155G>A
Grupo de pacientes con codón de parada (n=6)				
8	4	304	1	c.1127dupC
9	5	227,6	1	c.1081C>T
10	6	285,1	1	c.386delC
11	4	351,7	1	c.2037_2038del
12	6	232,1	1	c.386delC
13	6	265,1	1	c.358delC

Rangos de normalidad: FA 142 – 336 U/L

VI. CALCIO, FÓSFORO Y PTH EN SANGRE

Tanto la calcemia total media pre tratamiento (9,8 mg/dL, rango: 8,4-10,5 mg/dL) como el calcio iónico (4,64 mg/dL, rango: 3,81-5,02 mg/dL) se encontraron dentro de los rangos de la normalidad, no existiendo diferencias en ambas determinaciones en base a la presencia o ausencia de codón de parada. (Tabla 4.6)

En ambos grupos hemos observado un descenso de los niveles de calcio iónico a las 48 horas de la infusión de pamidronato, siendo significativo en grupo con codón de parada ($p=0,016$); no obstante en ningún caso dicho descenso se encontró por debajo del límite inferior de la normalidad. Tampoco se observaron diferencias en los niveles pre tratamiento de fósforo, e igualmente se encontraron dentro de los rangos de normalidad.

Tabla 4.6.- Valores medios de calcio total, calcio iónico y fósforo en el grupo de pacientes con mutación en COL1A1 (n=13)

Tipo de mutación	Calcio total pre tratamiento (mg/dL)	Calcio iónico (mg/dL)		Fósforo pre tratamiento (mg/dL)	Total pacientes
		Pre tratamiento	Post tratamiento		
Grupo sin codón de parada	9,7	4,62	4,56	4,5	7
Grupo codón de parada	9,8	4,67	4,6	4,6	6

Rangos de normalidad: FA (fosfatasa alcalina) 142 – 336 U/L, calcio total 8,2-10 mg/dL, calcio iónico 4,4-5,5 mg/dL, fósforo 3-6 mg/dL

En relación a la PTH, la diferencia observada en el grupo *COL1A1* sin codón de parada entre los valores medios pre tratamiento (media: 32,3 pg/mL, desviación típica: 11,09) y post tratamiento (34,6 pg/mL, desviación típica: 10,33) no resultó ser significativa ($p=0,22$). En el grupo con codón de parada el valor medio pre tratamiento fue 35,5 pg/mL (desviación típica 8,81) y post tratamiento 31,2 pg/mL desviación típica: 6,5). Esta diferencia resultó ser estadísticamente significativa ($p=0,006$), pero carente de relevancia clínica (valores de normalidad de la PTH: 11.0 - 80.0 pg/mL).

VII. BIOMARCADORES DE RESORCIÓN ÓSEA: B CROSSLAPS, ÍNDICE [Ca/ Cr]_o Y [P/ Cr]_o

Hemos observado un descenso en el valor medio de β -CTX a las 48 horas de la infusión de pamidronato, tanto en el grupo sin codón de parada como en el grupo con codón de parada. En ambos casos las diferencias observadas resultaron ser significativas (en ambas $p<10^{-3}$). (Tabla 4.7)

En cuanto a la eliminación renal de calcio pre y post tratamiento, observamos un aumento significativo en los valores medios del cociente [Ca/ Cr]_o tanto en el grupo sin codón de parada ($p<10^{-3}$) como en el grupo con codón ($p=0,001$).

De igual manera, tras analizar la eliminación renal de fósforo, observamos un aumento significativo ($p=0,004$) en los valores medios del cociente [P/ Cr]_o en el grupo de pacientes *COL1A1* sin codón de parada. Sin embargo dicho incremento no fue observado en el grupo de pacientes portadores de codón de parada, y las diferencias observadas no resultaron ser significativas ($p=0,7$).

Tabla 4.7.- Análisis descriptivo de los biomarcadores de resorción ósea pre y post tratamiento en el grupo de pacientes con mutaciones en *COL1A1* (n= 13)

Tipo de mutación (n° de pacientes)	β-CTX pre tratamiento (ng/mL)		β-CTX post tratamiento (ng/mL)	
	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
Grupo no codón de parada (7)	0,60	0,16	0,34	0,11
Grupo codón de parada (6)	0,68	0,19	0,38	0,12
	[Ca/ Cr] _o pre tratamiento (mg/g)		[Ca/ Cr] _o post tratamiento (mg/g)	
	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
Grupo no codón de parada (7)	116,04	114,45	218,77	291,64
Grupo codón de parada (6)	119,16	84,30	164,19	114,33
	[P/ Cr] _o pre tratamiento (mg/g)		[P/ Cr] _o post tratamiento (mg/g)	
	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
Grupo no codón de parada (7)	771,09	267,12	924,15	384,38
Grupo codón de parada (6)	855,38	323,34	828,83	391,64

Rangos de normalidad: β-CTX: no existen valores de normalidad en población pediátrica, [Ca/ Cr]_o: normal si < 200 mg/g. [P/ Cr]_o: 330-1300 mg/g.

4.4.3.- ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN *COL1A2*: 10 PACIENTES

En el grupo de pacientes portadores de mutación en *COL1A2* estaba constituido por 4 mujeres y 6 hombres. Respecto al tipo de OI, 8 estaban diagnosticados de OI tipo IV y 2 de OI tipo III.

El 100% de los pacientes recibían previamente tratamiento con pamidronato, habiendo sido administrados hasta ese momento una media de 13,9 ciclos (rango: 3-30).

A. ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN RENAL PRE TRATAMIENTO

El 100% de los pacientes mostraron una función renal normal previa al inicio de todos los ciclos de tratamiento. El valor medio de Cr en sangre fue de 0,52 mg/dL (rango: 0,4-0,77 mg/dL) y el de cistatina C 0,72 mg/L (rango: 0,44-1,15 mg/L).

B. ANÁLISIS DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO PRE TRATAMIENTO

I. FOSFATASA ALCALINA

La cifra media de FA previa al tratamiento fue de 215,2 U/L (rango: 76-405 U/L). Los niveles más altos pre tratamiento de FA fueron observados en una paciente

diagnosticada de OI tipo IV, portadora de la mutación c.946G>A en *COL1A2*. (Tabla 4.8)

Tabla 4.8.- Valores medios de FA pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en *COL1A2* (n=10)

Nº paciente	Nº de ciclos analizados	FA media U/L	Tipo OI	Mutación
1	6	146,8	III	c.3034G>A
2	6	219,6	III	c.1135G>A
3	6	246,6	IV	c.1009G>A
4	6	128	IV	c.1478G>A
5	6	255,5	IV	c.902G>T
6	6	143,3	IV	c.857G>C
7	6	286,3	IV	c.382C>T
8	6	169,8	IV	c.3527-1G>C
9	6	211,5	IV	c.2260G>A
10	6	344,3	IV	c.946G>A

Rangos de normalidad: FA (fosfatasa alcalina) 142 – 336 U/L

II. CALCIO, FÓSFORO Y PTH EN SANGRE

El valor medio pre tratamiento de calcemia total (9,5 mg/dL, rango: 4,6-10,5 mg/dL) y calcio iónico (4,68 mg/dL, rango: 4,21-5,06 mg/dL) se encontraron dentro de los rangos de la normalidad.

Hemos observado una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,004$) entre los niveles medios de calcio iónico pre (media: 4,68 mg/dL, desviación típica: 0,16) y post tratamiento (media: 4,61 mg/dL, desviación típica: 0,20). Dicha variación carece de relevancia clínica al encontrarse dentro de los intervalos de normalidad (4,4-5,5 mg/dL).

El nivel medio de fósforo fue de 4,54 mg/dL (rango: 3,27-5,86 mg/dL) y no observamos en ningún caso valores por encima de los límites de la normalidad (3-6 mg/dL).

En relación a la PTH, la diferencia observada en el grupo *COL1A2* entre los valores medios pre tratamiento (media: 33,97 pg/mL, desviación típica: 10,38) y post tratamiento (29,88 pg/mL, desviación típica: 8,98) resultó ser significativa ($p=0,015$). Esta diferencia, aun resultando estadísticamente significativa, carece de relevancia clínica (valores de normalidad de la PTH: 11.0 - 80.0 pg/mL).

III. BIOMARCADORES DE RESORCIÓN ÓSEA: B CROSSLAPS, ÍNDICE [Ca/Cr]_o Y [P/ Cr]_o

Hemos observado un descenso no significativo ($p=0,21$) en el valor medio de β Crosslaps tras la administración del pamidronato. (Tabla 4.9)

El descenso observado en este grupo, tanto en la eliminación renal de calcio ($p=0,002$) como de fósforo ($p=0,002$) fueron estadísticamente significativos.

Tabla 4.9.- Análisis descriptivo de los biomarcadores de resorción ósea pre y post tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en *COL1A2* (n=10)

β-CTX pre tratamiento (ng/mL)		β-CTX post tratamiento (ng/mL)	
Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
1,16	3,63	0,51	0,23
[Ca/ Cr] _o pre tratamiento (mg/g)		[Ca/ Cr] _o post tratamiento (mg/g)	
Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
175,95	113,87	245,40	160,85
[P/ Cr] _o pre tratamiento (mg/g)		[P/ Cr] _o post tratamiento (mg/g)	
Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
868,32	297,03	719,79	280,03

Rangos de normalidad: β-CTX: no existen valores de normalidad en población pediátrica, [Ca/ Cr]_o : normal si < 200 mg/g. [P/ Cr]_o: 330-1300 mg/g.

4.4.4.- COMPARACIÓN DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO ENTRE EL GRUPO DE PACIENTES CON MUTACIONES EN *COL1A1* Y *COL1A2*

A. FOSFATASA ALCALINA

En ambos grupos los niveles de FA se encontraron dentro de los límites de la normalidad.

B. CALCIO, FÓSFORO Y PTH

No hemos observado diferencias entre grupos en cuanto a los niveles medios de calcemia total y fosfatemia pre tratamiento.

Tras analizar los niveles medios post pamidronato de calcio iónico, hemos podido observar cómo se producía un descenso en dichos niveles en todos los grupos; en ningún caso por debajo de los rangos de normalidad. El descenso observado fue significativamente mayor ($p < 0,001$) cuanto mayores fueron sus niveles pre tratamiento. El valor estimado de cambio en sus niveles entre los 3 grupos (*COL1A1* sin codón de parada, *COL1A1* con codón de parada y mutación en *COL1A2*) no mostró diferencias significativas.

La diferencias observadas en los niveles inter grupos de PTH no fueron significativas.

C. BIOMARCADORES DE RESORCIÓN ÓSEA: B-CTX, ÍNDICE [Ca/ Cr]_o Y [P/ Cr]_o

En todos los grupos hemos observado un descenso en los valores de β-CTX tras la administración del ciclo con pamidronato. Únicamente hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar el descenso de β-CTX observado en el grupo

de pacientes portadores de mutación en *COLIA2* con los pacientes del grupo *COLIA1* sin codón de parada ($p=0,02$).

No se encontraron diferencias significativas entre los 3 grupos en los cambios observados pre y post tratamiento de los cocientes urinarios de Ca/Cr y P/Cr.

4.5.- CORRELACIÓN GENOTIPO FENOTIPO

4.5.1.- TIPO DE MUTACIÓN Y FORMA CLÍNICA DE OI

Todos los pacientes con mutación de tipo codón de parada en *COLIA1* y que, por tanto, dio lugar a haploinsuficiencia del gen, tenían el diagnóstico clínico de OI tipo I (6 casos). El resto de pacientes, portadores de mutaciones helicoidales en *COLIA1* o *COLIA2*, estaban diagnosticados de OI tipos III o IV. (Tabla 4.10)

Tabla 4.10.- Relación entre mutación y tipo de OI

Tipo OI	Haploinsuficiencia <i>COLIA1</i> (n=6)	Mutación helicoidal <i>COLIA1</i> (n=7)	Mutación helicoidal <i>COLIA2</i> (n=10)
I	6	0	0
III	0	6	2
IV	0	1	8

4.5.2.- ANTECEDENTES PRENATALES

A. EDAD GESTACIONAL

La media de edad gestacional fue muy similar en ambos grupos (*COLIA1*: 38,9 semanas; *COLIA2*: 38,5 semanas), sin diferencias significativas ($p=0,6$).

Únicamente dos pacientes nacieron de forma prematura antes de las 37 semanas (ambos en la semana 36 y con un peso adecuado para su edad gestacional). El primero era portador de la mutación c.358delC en *COLIA1* y el segundo de la variante c.902G>T en *COLIA2*. Ninguno asoció deformidades intraútero diagnosticadas ecográficamente, ni presentó fracturas al nacimiento.

B. PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS EN EL MOMENTO DEL NACIMIENTO: PESO Y LONGITUD

I. PESO RECIÉN NACIDO

El peso medio al nacimiento en el grupo de pacientes con mutación en *COLIA1* fue 2765g (rango: 1910-3500g, desviación típica: 0,465) y 3129g en el de *COLIA2* (rango: 2680-3750g, desviación típica: 0,369). Dentro del primer grupo, el peso medio de los pacientes portadores de codón de parada fue superior al de los no portadores: 2898g frente a 2606g. Las diferencias observadas entre los portadores de mutaciones helicoidales en *COLIA1*/*COLIA2* y los que asociaron codón de parada en *COLIA1* resultaron significativas ($p=0,02$). (Ilustración 4.2)

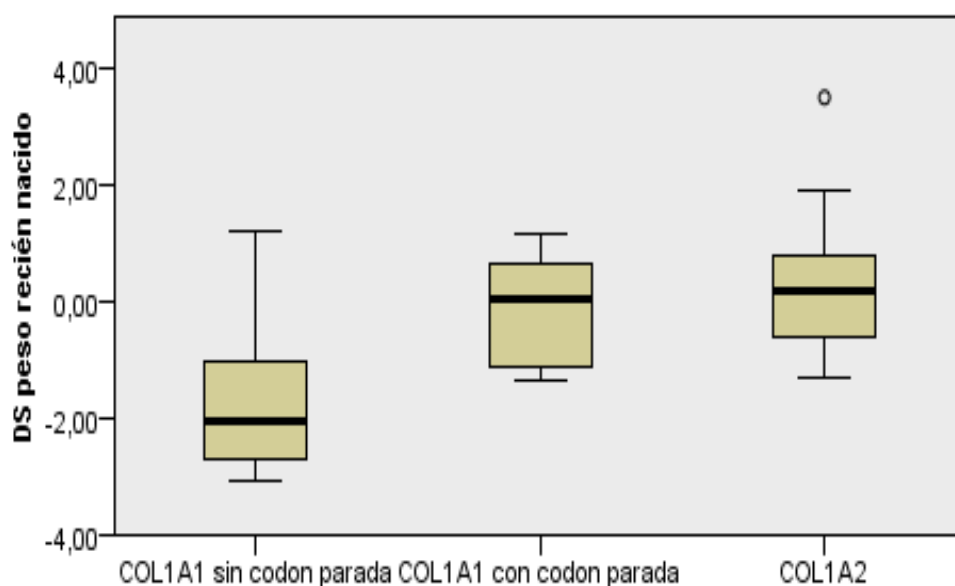


Ilustración 4.2.- Comparación entre peso medio de RN y las distintas mutaciones

Tres pacientes, todos ellos portadores de mutación en *COL1A1* sin codón de parada, presentaron un peso al nacimiento inferior a percentil 3. (Tabla 4.11)

II. LONGITUD RECIÉN NACIDO

La longitud media al nacimiento en el grupo de pacientes con mutación en *COL1A1* fue 47,8 cm (rango: 44-51cm, desviación típica: 2,6) y 50,4 cm (48-52) en el de *COL1A2* (rango: 48-52cm, desviación típica: 1,6). Al igual que el peso, la longitud media del grupo de pacientes portadores de codón de parada fue superior al de los no portadores: 48,9 cm frente a 46,5 cm. Las diferencias observadas no resultaron ser estadísticamente significativas ($p=0,22$).

No encontramos diferencias al comparar la LRN y el PRN dentro de los tres grupos en función del sexo.

Tabla 4.11.- Parámetros antropométricos en el momento del nacimiento: peso (PRN) y longitud (LRN)

Grupo <i>COLIA1</i> (n=13)				
Nº paciente	Sexo	PRN (Kg)	LRN (cm)	Mutación
1	♀	2,40(PC <1, -2,36 DS)	44(PC <1, -3,5 DS)	c.2101G>T
2	♀	2,28(PC <1, -2,69 DS)	**	c.1622_1630del
3	♀	2,90(PC 16, -1,02 DS)	51(PC 76, +0,72 DS)	c.1235C>G
4	♀	2,75(PC 4, -1,88 DS)	**	c.2498G>C
5	♂	3,50(PC 88, +1,21 DS)	46(PC 7, -1,52 DS)	c.671G>A
6	♂	1,91(PC <1, -3,06 DS)	45(PC <1, -2,66 DS)	c.3505G>A
7	♂	2,50(PC 3, -2,02 DS)	**	c.2155G>A
8	♂	**	**	c.1127dupC
9	♀	2,68(PC 9, -1,36 DS)	50,5(PC 73, +0,64 DS)	c.1081C>T
10	♀	2,65(PC 19, -0,89 DS)	46(PC 6, -1,61 DS)	c.386delC
11	♂	3,37(PC 56, +0,17 DS)	50(PC 50, +0 DS)	c.2037-2038del
12	♀	3,20(PC 51, +0,04 DS)	50(PC 63, +3,5 DS)	c.386delC
13	♂	3,05(PC 87, +1,16 DS)	48(PC 63, +3,5 DS)	c.358delC
Grupo <i>COLIA2</i> (n=10)				
1	♂	4,70(PC>99, +3,52 DS)	**	c.3034G>A
2	♀	3,34(PC65, +0,41 DS)	50(PC 63, +3,5 DS)	c.1135G>A
3	♂	2,80(PC20, -0,87 DS)	**	c.1009G>A
4	♀	2,70(PC10, -1,31 DS)	48(PC 20, -0,86 DS)	c.1478G>A
5	♂	2,68(PC54, +0,11 DS)	**	c.902G>T
6	♀	3,30(PC62, +0,31 DS)	**	c.857G>C
7	♂	3,19(PC30, -0,53 DS)	52(PC 83, +0,97 DS)	c.382C>T
8	♂	3,75(PC97, +1,91 DS)	52(PC 96, +1,85 DS)	c.3527-1G>C
9	♂	2,95(PC31, -0,5 DS)	**	c.2260G>A
10	♀	3,45(PC67, +0,45 DS)	50(PC 54, +0,11 DS)	c.946G>A

PC: percentil. DS: desviaciones estándar. (**): Dato desconocido

III. DEFORMIDADES ÓSEAS Y FRACTURAS PRENATALES

En total 10 pacientes presentaron deformidades óseas intraútero, 6 portadores de mutación en *COLIA1* y 4 en *COLIA2*. (Tabla 4.12)

El 100% de los pacientes con deformidades prenatales portadores de mutación en *COLIA1* pertenecían al grupo sin codón de parada, incluyendo a la única paciente de toda nuestra serie que presentó varias fracturas intraútero de grandes huesos largos: una niña portadora de la variante c.1626_1634del a nivel del gen *COLIA1* que nació con fractura a nivel de fémur, cúbito y maxilar.

Cabe destacar a 4 pacientes que, aun sin haber sido diagnosticados de fracturas intraútero, la presentaron durante su primera quincena de vida. Dos de ellos pertenecen al grupo *COLIA1* sin codón de parada: el primero (mutación c.671G>A) la sufrió a los 10 días de vida (fractura múltiple en fémur, tibia y peroné), y el segundo (c.3505G>A) sufrió fractura de fémur en el primer día de vida. Los otros dos pacientes, son portadores de las mutaciones c.3034G>A y c.1135G>A a nivel de *COLIA2*, y ambos presentaron fractura femoral.

Tabla 4.12.- Deformidades óseas y fracturas prenatales

Grupo <i>COL1A1</i> (n=6)			
Nº paciente	Sexo	Descripción	Mutación
1	♀	Acortamiento bifemoral	c.2101G>T
2	♀	Fractura a nivel de fémur, cúbito y maxilar	c.1622_1630del
3	♀		
4	♀	Curvatura femoral, tibial y humeral	c.2498G>C
5	♀	Curvatura femoral	c.671G>A
6	♂	Acortamiento bifemoral	c.3505G>A
		Curvatura femoral, tibial y humeral	c.2155G>A
Grupo <i>COL1A2</i> (n=4)			
1	♂	Fractura bilateral de clavícula	c.3034G>A
2	♀	Acortamiento bifemoral	c.1135G>A
3	♀	Curvatura femoral	c.1009G>A
4	♂	Curvatura femoral	c.2260G>A

4.5.3.- RASGOS FÍSICOS DE OI: DENTINOGÉNESIS, FACIES Y ESCLERAS

Asociaron DI el 60% de los portadores de mutación en *COL1A2* y el 42,8% de los pacientes sin codón de parada. Ningún paciente con mutación en *COL1A1* y codón de parada asoció DI.

El 100% de los pacientes con codón de parada presentaron escleras azules, 2 pacientes en el grupo sin codón de parada y uno en el grupo *COL1A2*. Existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de escleras blancas y ser portador de mutación en el gen *COL1A2* ($p_{\text{Fisher}}=0,029$) así como entre la presencia de escleras azules y ser portador de codón de parada ($p_{\text{Fisher}}=0,001$).

El 71,4% de los pacientes sin codón de parada tenía una facies de forma triangular, siendo esta asociación estadísticamente significativa ($p_{\text{Fisher}}=0,003$). Del resto, un solo paciente en el grupo *COL1A2* presentó facies triangular. La morfología facial de todos los pacientes con codón de parada fue ovalada.

4.5.4.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS EXTRAÓSEAS: HIPOACUSIA Y ALTERACIONES CARDIACAS

En 4 pacientes (2 casos de codón parada: c.1127dupC y c.1081C>T y 2 casos con mutación en *COL1A2*: c.3034G>A y c.857G>C) se encontró un déficit de audición en el momento del alta. No se han encontrado relaciones estadísticamente significativas entre esta variable y ningún tipo de mutación.

Se realizó ecocardiograma en el momento del alta a 13 pacientes, resultando patológico en 3 casos, todos ellos pacientes con mutación en *COL1A2* y diagnosticados de OI tipo IV. El primero era portador de la mutación c.1009G>A y presentó una insuficiencia tricuspídea moderada. El segundo portaba la única mutación intrónica de nuestra serie (c.3527-1G>C), observándose una dilatación a nivel del ventrículo derecho. Por último, el tercer caso (c.382C>T) presentaba una cardiopatía congénita de base (coartación aórtica y estenosis mitral).

4.5.5.- ANÁLISIS DE LAS FRACTURAS

A. DESCRIPCIÓN DE LA PRIMERA FRACTURA

Con respecto a la edad de presentación de la primera fractura, los pacientes portadores de mutación en *COL1A1* fueron los que comenzaron a fracturarse de manera más temprana (edad media de comienzo: 3,04 meses, rango: 0-16 meses), incluyendo un caso de fractura intráutero. En segundo lugar los portadores de mutación en *COL1A2* (media: 12,3 meses, rango 0-64,2 meses; incluyendo un caso de fractura intráutero) y por último el grupo *COL1A1* con codón de parada (media: 34,8 meses, rango: 1-108). Parece que existe asociación entre la edad de la primera fractura, diferenciada en tramos (primer año, segundo año, tercer año) y las diferentes mutaciones, rozando la significación ($p=0,07$).

En el 100% de los casos la primera fractura sucedió sobre un hueso largo, siendo el fémur el hueso fracturado en mayor número de ocasiones, tanto en el grupo *COL1A1* (5 pacientes) como en el *COL1A2* (5 pacientes). (Tabla 4.13)

En el grupo *COL1A1*, un 58,3% de los casos (7 pacientes) sufrió su primera fractura de manera aislada y un 41,6% combinada (2 o más fracturas). Dentro de este grupo hemos observado diferencias en cuanto al tipo de hueso fracturado en función de si el paciente era o no portador de un codón de parada. Los pacientes con codón de parada presentaron fracturas en huesos largos de pequeño tamaño (clavícula, falanges de pies y manos), hecho no observado en el grupo sin codón de parada.

Dentro del grupo *COL1A2* el 80% debutaron con una única fractura aislada, que se correspondió en la mayoría de los casos (5/8) con un hueso largo de los miembros inferiores (5 pacientes sufrieron fractura de fémur y un paciente fractura de tibia).

Tabla 4.13.- Descripción de la primera fractura
Grupo *COL1A1* (n=13)

Nº paciente	Sexo	Edad	Descripción	Mutación
1	♀	RN	Fémur	c.2101G>T
2	♀	Intraútero	Fémur, cúbito y maxilar	c.1622_1630del
3	♀	16 meses	No especificada	c.1235C>G
4	♀	3 meses	Húmero	c.2498G>C
5	♂	10 días	Fémur,tibia y peroné	c.671G>A
6	♂	1 ^{er} día	Fémur	c.3505G>A
7	♂	RN	Fémur	c.2155G>A
8	♂	17 meses	Tibia	c.1127dupC
9	♀	2 años	Falanges pie	c.1081C>T
10	♀	2 años	Húmero	c.386delC
11	♂	9 años	Tibia y peroné	c.2037-2038del
12	♀	RN	Clavícula	c.386delC
13	♂	Desconocida	Falanges mano	c.358delC
Grupo <i>COL1A2</i> (n=10)				
1	♂	8 días	Clavículas	c.3034G>A
2	♀	8 días	Fémur	c.1135G>A
3	♂	12 meses	Tibia	c.1009G>A
4	♀	11 meses	Cúbito y radio	c.1478G>A
5	♂	2 meses	Fémur	c.902G>T
6	♀	RN	Clavícula	c.857G>C
7	♂	24 meses	Fémur	c.382C>T
8	♂	1,5 meses	Femur	c.3527-1G>C
9	♂	5 años	Femur	c.2260G>A
10	♀	9 meses	Clavícula	c.946G>A

B. HISTORIAL DE FRACTURAS PRE TRATAMIENTO CON BIFOSFONATOS

Se ha excluido del análisis al paciente que presentaba el mayor número de fracturas pretratamiento de toda serie, al ser incontables. Era portador de la mutación c.2155G>A en *COL1A1*. Nacido en Camerún, había sido trasladado a España en edad adolescente para comenzar tratamiento por primera vez.

El mayor número de fracturas pre tratamiento se observan en el grupo *COL1A2*, con una media total de 10 (rango: 1-28). La edad media de comienzo del tratamiento en este grupo fue 7.9 años (rango: 0,4-15,5 años, desviación típica: 5 años). No observamos diferencias entre el grupo *COL1A1* con y sin codón de parada (media grupo codón de parada: 4,2 fracturas, rango: 2-7, media grupo sin codón de parada: 5 fracturas, rango: 2-10) (p=0,03).

Hemos comparado la edad media de comienzo de tratamiento en ambos grupos para comprobar si existe asociación entre un inicio más precoz de tratamiento y la severidad de la enfermedad. El grupo sin codón de parada comenzó el tratamiento a 5,4 años (rango: 0,1-14,5 años, desviación típica: 5,6) y el grupo con codón de parada

a los 7,1 años (rango: 1,9-13,1 años, desviación típica: 4,7). Estas diferencias no resultaron ser significativas ($p=0,6$).

C. TOTAL DE FRACTURAS EN EL MOMENTO DEL ALTA

Al igual que en el apartado anterior también ha sido excluido el paciente portador de la mutación C.2155G>A en *COL1A1*.

El mayor número de fracturas fue nuevamente observado en el grupo *COL1A2*, con una media total de 14,1 (rango: 6-33). Por el contrario el grupo de los pacientes con codón de parada en *COL1A1* fue el que presentó el menor número total de fracturas (media: 6,5 fracturas, rango: 4-11. Media grupo sin codón de parada: 9,2 fracturas, rango: 2-27). Estas diferencias no resultaron ser significativas ($p=0,08$).

4.5.6.- ALTERACIONES ÓSEAS ASOCIADAS: ESCOLIOSIS Y MALFORMACIÓN DE LA BASE DE CRÁNEO

Con respecto a la escoliosis, el 85,7% de los pacientes con mutación en *COL1A1* sin codón de parada presentaba escoliosis al alta., el 33,3 % del grupo con codón de parada y el 60% del grupo *COL1A2*. Estas diferencias no resultaron ser significativas ($p_{\text{Fisher}}=0,176$).

Se solicitaron en el momento del alta 17 RMN cerebrales. En el 64,7% de los casos no se encontraron anomalías óseas ni en el cráneo ni en la columna cervical. En el resto de los casos encontramos tres casos de platibasia (*COL1A1*: c.2498G>C y c.671G>A; *COL1A2*: c.902G>T), dos casos de invaginación basilar (*COL1A1*: c.2101G>T y C.2155G>A) y un caso de protusión odontoidea (*COL1A2*: c.857G>C).

El total de RMN realizadas en el grupo de pacientes con codón de parada (5 en total), resultaron normales.

4.5.7.- DENSIDAD MINERAL ÓSEA AL ALTA

En cuanto a la DMO media, los valores en el z-score ajustados a edad cronológica encontrados en el momento del alta fueron: *COL1A1* sin codón -2,26 DS, *COL1A1* con codón 0,32 DS y *COL1A2* -0,63 DS; Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes *COL1A1* con y sin codón de parada ($p=0,04$). (Ilustración 4.3)

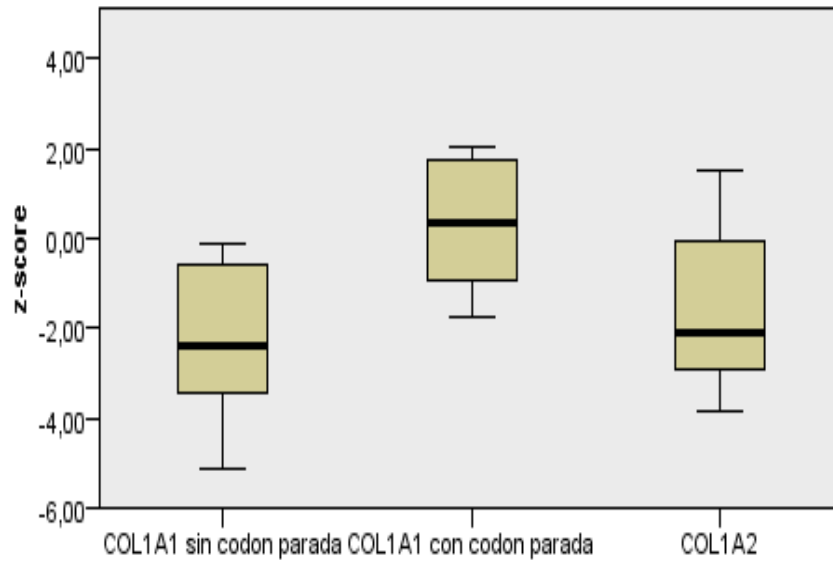


Ilustración 4.3.- Comparación entre DMO al alta (z-score) y las distintas mutaciones

4.5.8.- ANÁLISIS DE LA TALLA FINAL

Evaluamos la TF alcanzada en los tres grupos de pacientes. Así mismo efectuamos una comparación entre la TD y la TF. El dato de la TD se desconocía en un paciente, al tratarse de un niño adoptado.

La TF media alcanzada por nuestros pacientes fue: 133,02 cm (-5,28 DS) en el grupo *COL1A1* sin codón de parada, 159,5 cm (-0,91 DS) en el grupo *COL1A1* con codón de parada y 152,2 cm (-2,54 DS) en el grupo *COL1A2*. (Tabla 4.14)

No encontramos diferencias al comparar la TF dentro de los tres grupos en función del sexo.

Tabla 4.4.14.- Análisis descriptivo de la TF

Grupo <i>COLIA1</i> sin codón de parada (n=7)						
Nº paciente	Sexo	Talla diana		Talla final		Mutación
		cm	DS	cm	DS	
1	♀	156,5	-1,12	125	-5,64	c.2101G>T
2	♀	163,8	0,3	138	-3,76	c.1622_1630del
3	♀	167,9	0,61	137	-3,87	c.1235C>G
4	♀	155,6	-1,1	128	-4,91	c.2498G>C
5	♂	172	-0,4	140	-5,33	c.671G>A
6	♂	165,7	-1,69	147,2	-3,61	c.3505G>A
7	♂	169,7	-1,02	116	-9,9	c.2155G>A
Grupo <i>COLIA1</i> con codón de parada (n=6)						
1	♂	**	**	170	0,08	c.1127dupC
2	♀	155,9	-1,21	149	-1,95	c.1081C>T
3	♀	160,7	-0,49	152	0,21	c.386delC
4	♂	168,5	-1,22	163	-1,68	c.2037-2038del
5	♀	159,9	-0,6	164	0,08	c.386delC
6	♂	156,5	-3,2	159	-2,2	c.358delC
Grupo <i>COLIA2</i> (n=10)						
1	♂	170,2	-0,7	125	-7,55	c.3034G>A
2	♀	154,4	-1,3	143	-3,11	c.1135G>A
3	♂	176	-0,01	168	-0,62	c.1009G>A
4	♀	167,5	0,9	157	-0,94	c.1478G>A
5	♂	172,5	-0,3	152	-3,96	c.902G>T
6	♀	145,2	-2,84	151	-1,95	c.857G>C
7	♂	169	-1,18	168,5	-1	c.382C>T
8	♂	168	-1	154	-2,44	c.3527-1G>C
9	♂	167,5	-1,1	158	-1,41	c.2260G>A
10	♀	156,2	-1,17	145,5	-2,5	c.946G>A

(**) Dato desconocido

Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar la TF alcanzada por los grupos *COLIA2* y *COLIA1* sin codón de parada ($p=0,03$) así como entre los grupos *COLIA1* sin y con codón de parada ($p=0,003$). Por el contrario no se encontraron diferencias significativas entre los grupos *COLIA2* y *COLIA1* con codón de parada. (Ilustración 4.4)

No hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la TD y la TF (Rho Spearman 0,15 $p=0,5$).

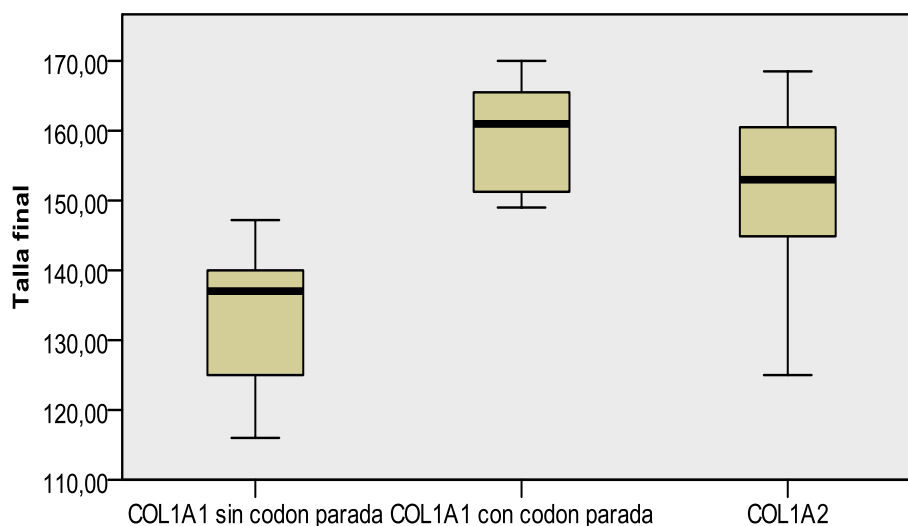


Ilustración 4.4.- Comparación entre TF y las distintas mutaciones

El tipo de mutación mayoritario encontrado en nuestra serie fue la sustitución. Tanto en el grupo *COL1A1* como *COL1A2* el aminoácido que sustituyó a la Gly en mayor número de ocasiones fue la Ser.

En los casos que asociaron mutación de tipo sustitución dentro del grupo *COL1A1* (6 casos), encontramos 2 pacientes con sustitución de Gly por Ser. La talla media (TM) alcanzada por estos pacientes fue 167,7 cm. En el resto (4 casos), la TF media (TFM) fue 163 cm. En el grupo *COL1A2* hubo 9 caso de sustitución: en 5 de ellos Gly fue sustituida por una Ser (TFM: 167,7 cm) y en 4 por diferentes aminoácidos (TM: 159,9 cm).

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN

La OI se asocia, en la mayoría de las ocasiones, a mutaciones dominantes en los genes *COL1A1* o *COL1A2*, afectando bien a la síntesis o bien a la estructura de las cadenas $\alpha 1$ y $\alpha 2$. El estudio genético es una herramienta cada vez más extendida entre los pacientes que padecen esta enfermedad, y por tanto los trabajos que tratan de correlacionar el genotipo y el fenotipo pueden representar una valiosa ayuda en el manejo individual de cada paciente. Sin embargo, esta tarea resulta compleja dada la enorme cantidad de mutaciones diferentes descritas en *COL1A1/COL1A2* y su amplia expresividad funcional y clínica.

5.1.- CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

TIPO DE MUTACIÓN/TIPO CLÍNICO DE OI

En cuanto a la relación entre el tipo de mutación y la forma clínica de OI, las proporciones de OI tipos I, III y IV de nuestra muestra fueron diferentes a los reportadas por otras series de casos más amplias. En un estudio realizado por Rauch y colaboradores¹³⁸ sobre una muestra de 192 pacientes, el tipo clínico más frecuentemente asociado a las mutaciones helicoidales sobre *COL1A1* y *COL1A2* fue el tipo IV. Por el contrario, en nuestra serie, dentro del grupo de pacientes con mutaciones en *COL1A1* no asociadas a codón de parada el tipo de OI mayoritaria fue el tipo III.

DEFORMIDADES/FRACTURAS INTRAÚTERO

Las mutaciones que condicionan una haploinsuficiencia de uno de los dos alelos del gen *COL1A1* se correlacionan con las formas más leves de la enfermedad (OI tipo I). En nuestra serie hemos encontrado seis mutaciones asociadas a codón de parada, 4 de las cuales resultaron deleciones, y todas ellas a nivel de *COL1A1*.

Ningún portador de codón de parada presentó deformidades o fracturas intraútero, y todos sufrieron su primera fractura a una edad media más tardía con respecto a los otros dos grupos.

Ben Amor y colaboradores¹³⁹ publicaron en 2013 un estudio descriptivo sobre un total de 86 pacientes con OI causada por mutación responsable de haploinsuficiencia en *COL1A1*. El 12% asociaron antecedentes neonatales de fracturas o deformidades de huesos largos.

DENTINOGENESIS IMPERFECTA

Cerca del 50% de los niños y adultos con OI presentan afectación dentaria con mayor o menor grado de severidad (140). La DI es un desorden hereditario que afecta al desarrollo de la dentición, y que condiciona alteraciones en la dentina tanto de los dientes deciduos como permanentes. Puede clasificarse en tres formas básicas (Shields tipo I, II, y III)¹⁴¹, siendo el tipo I el que se asocia a OI. La mayoría de pacientes con DI

presentan defectos cualitativos del colágeno (96%), y una minoría (4%) defectos cuantitativos¹⁴².

En nuestro estudio, asociaron DI el 60% de los portadores de mutación en *COLIA2* y el 42,8% de los pacientes sin codón de parada. Ningún paciente con mutación en *COLIA1* y codón de parada asoció DI.

Lund y colaboradores¹⁴³ no encontraron asociación entre la presencia de DI y ningún tipo específico de anomalía estructural o posicional en las cadenas del colágeno tipo I.

ESCLERAS AZULES

La coloración de las escleras es uno de los signos que clásicamente fueron empleados para la clasificación de la OI. Su presencia en los distintos subtipos de OI no siempre es constante, de manera que mientras que la gran mayoría de pacientes con OI tipo I presentan escleras azules, también pueden tenerlas de color blanco; así mismo también pueden asociar escleras azules los pacientes con OI tipos III y IV. Por esta razón algunos autores no consideran a la coloración de las escleras como un rasgo definitorio de cada subtipo de OI¹⁴³.

El 100% de nuestros pacientes con OI tipo I asociada a codón de parada presentaron escleras azules, únicamente el 28% de los pacientes con mutación sin codón de parada en *COLIA1*. Estudios más amplios muestran una prevalencia de escleras azules en portadores de mutaciones helicoidales en *COLIA1* del 75% y del 57% en *COLIA2*¹⁴⁴. En nuestra serie encontramos una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de escleras blancas y ser portador de mutación en el gen *COLIA2*.

ALTERACIONES CARDIACAS

En nuestra serie únicamente 3 pacientes, todos ellos pertenecientes al grupo *COLIA2*, asociaron alteraciones cardiacas, incluyendo dos casos de valvulopatía (uno de ellos en el contexto de una cardiopatía congénita) y un caso de dilatación del ventrículo derecho.

La prevalencia de patología cardíaca y OI en población pediátrica no es bien conocida, ya que la mayoría de estudios que han evaluado la relación entre OI y enfermedad cardíaca han sido desarrollados en adultos.

Las patologías que con mayor frecuencia se asocian a OI son las valvulopatías y el aumento del diámetro aórtico¹⁴⁵. En un estudio realizado por Al-Senaidi y colaboradores¹⁴⁶ en un grupo de 8 niños con OI (7 con OI tipo III y uno con OI tipo IV) encontraron signos ecocardiográficos de disfunción diastólica precoz aún encontrándose los pacientes asintomáticos.

A pesar del pequeño número de pacientes con afectación cardiovascular que hemos encontrado en nuestra muestra, el screening ecocardiográfico, resulta absolutamente imprescindible en esta enfermedad como así lo demuestra el hecho de

que algunos autores hayan encontrado disfunción diastólica asintomática incluso en pacientes adultos¹⁴⁷.

ALTERACIONES AUDITIVAS

La prevalencia de la OI asociada a hipoacusia en estudios familiares oscila entre el 37 y el 64%, siendo la prevalencia reportada en los estudios de poblaciones internacionales del 45 al 58%¹⁴⁸.

La pérdida auditiva varía en función del tipo de OI, habiendo sido descrita con mayor frecuencia en el tipo I e infrecuentemente en el tipo IV¹⁴⁹. De los 4 pacientes que en nuestra serie asociaron hipoacusia, 2 estaban diagnosticados de OI tipo I, uno de OI tipo III y el restante de OI tipo IV. En nuestro estudio no encontramos asociación entre la presencia de hipoacusia y ningún tipo de mutación.

La OI asociada a hipoacusia es habitualmente bilateral y se desarrolla durante la segunda a la cuarta décadas de la vida. Suele comenzar como una hipoacusia conductiva, con un desarrollo posterior de componente neurosensorial. La hipoacusia neurosensorial aislada se observa únicamente en una minoría de los pacientes¹⁵⁰.

ESCOLIOSIS

No hemos encontrado diferencias significativas entre el tipo de mutación y la presencia de escoliosis. El mayor número de pacientes afectados se correspondió con el grupo de mutaciones helicoidales en *COL1A1*, estando el 100% diagnosticados de OI tipo III.

Recientemente Sato y colaboradores¹⁵¹ investigaron la presencia de escoliosis en una amplia muestra de 437 individuos con OI: 188 OI tipo I, 82 tipo II y 167 tipo III. El mayor porcentaje de pacientes que desarrollaron escoliosis, concretamente un 89,02%, se encontró en el grupo OI tipo III; el 48,7% eran portadores de mutaciones en *COL1A1* y 51,2% en *COL1A2*.

ALTERACIONES DE BASE DEL CRÁNEO

Las anomalías de la base craneal representan una importante complicación de la OI; pueden dar lugar a compresión de las estructuras de la fosa posterior: hidrocefalia, malformación de tipo Chiari o siringomielia^{152,153}. Cheung y colaboradores¹⁵⁴ llevaron a cabo un estudio para estudiar la prevalencia de anomalías de la base del cráneo sobre una muestra de 187 pacientes con OI, siendo la platibasia la más frecuentemente documentada en un 16% de los pacientes. En función del genotipo, la prevalencia de anomalías de base del cráneo observada por los autores fue del 6% de los pacientes con haploinsuficiencia, 43% y 32% de los pacientes con mutaciones helicoidales en *COL1A1* y *COL1A2* respectivamente, y un 17% de los pacientes con mutación en sitio de splicing en ambos genes.

En nuestra serie el grupo de pacientes con mutaciones helicoidales en *COL1A1* fue el que mostró mayor prevalencia de alteraciones a nivel de base del cráneo. Por el contrario, ningún paciente portador de codón mostró malformaciones óseas a ese nivel.

TALLA FINAL

Los pacientes con mutaciones no asociadas a codón de parada en *COL1A1* mostraron una TF significativamente inferior a la alcanzada por los otros dos grupos, coincidiendo con lo observado en estudios antropométricos realizados en pacientes con OI que demuestran cómo aquellos pacientes portadores de defectos cualitativos en el colágeno presentan una talla significativamente inferior a los que asocian defectos cuantitativos¹⁵⁵.

En nuestra serie encontramos diferencias significativas al comparar la TF de los dos grupos portadores de mutaciones helicoidales. Rauch y colaboradores, sobre una muestra de 161 con OI, no encontraron diferencias en el z-score de talla observada en dos grupos de pacientes portadores de mutaciones que condujeron a sustituciones helicoidales de Gly tanto en $\alpha 1$ como en $\alpha 2$ ¹⁴⁴. No obstante el trabajo incluyó pacientes de diferentes edades (media: 13 años), por lo que no incluyó exclusivamente a los pacientes que alcanzaron TF. La posición en la que tuvo lugar el cambio de Gly se relacionó con el decremento de talla, de tal manera que aquellas sustituciones a nivel de la cadena $\alpha 2$ que tuvieron lugar en las cercanías del extremo C-terminal se correlacionaron con mayor decremento en la talla, no observando dicha relación a nivel de la cadena $\alpha 1$.

La talla alcanzada por los pacientes con OI portadores de mutaciones helicoidales de tipo sustitución también parece estar influenciada con el tipo específico de aminoácido que se intercambie por la Gly¹⁴². El tipo de mutación mayoritario encontrado en nuestra serie fue la sustitución, y tanto en el grupo *COL1A1* como *COL1A2* el aminoácido que sustituyó a la Gly en mayor número de ocasiones fue la Ser.

Las sustituciones por Ser son las más comunes, tanto en la cadena $\alpha 1$ como la $\alpha 2$ ¹⁵⁶, y algunos autores parecen encontrar un mayor deterioro de la talla cuando dichas sustituciones afectan a la cadena $\alpha 1$ ¹⁴⁴. En nuestra serie la TF media alcanzada por los pacientes con sustituciones Gly/Ser fue idéntica en ambos grupos (167,7 cm tanto para *COL1A1* como para *COL1A2*), si bien el número de casos analizados fue muy pequeño.

En un estudio de correlación genotipo/fenotipo esquelético realizado en 192 pacientes con OI¹³⁸ (rango de edad: 3 semanas a 16,9 años) los autores observaron que los portadores de mutaciones productoras de haploinsuficiencia tenían tallas superiores que los pacientes con mutaciones helicoidales en las cadenas $\alpha 1$ o $\alpha 2$. Estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos en nuestra serie: TF media 159,5 cm (-0,91 DS) en el grupo *COL1A1* con codón de parada, 152,2 cm (-2,54 DS) en el grupo *COL1A2* y 133,02 cm (-5,28 DS) en el grupo *COL1A1* sin codón de parada.

DENSIDAD MINERAL ÓSEA

En el momento del alta los pacientes con *COL1A1* sin codón mostraron los peores registros de DMO (z-score: -2,26 DS) seguidos por los pacientes *COL1A2* (-0,63 DS), y en último lugar los *COL1A1* con codón (0,32 DS).

Nuestros datos son mejores respecto a los encontrados por otras series de casos más amplias. Lindahl y colaboradores⁴⁴ efectuaron un detallado estudio sobre 223 individuos provenientes de 197 familias suecas con OI. En su serie los mejores resultados de DMO se correspondieron con pacientes diagnosticados de OI tipo I (z-score -2,66). En uno de los pocos trabajos sobre población asiática, Lin HY y colaboradores¹⁵⁷ analizaron las características clínicas de una muestra de pacientes con OI y mutación en *COL1A1* y *COL1A2*, y los valores de z-score de la DMO en el conjunto de pacientes que asociaron mutaciones de tipo haploinsuficiencia fue -1,7.

Pensamos que una de las posibles causas que justifican las diferencias observadas en nuestros registros de DMO en comparación con otras series, guarde relación con la mayor ganancia de masa ósea que hemos podido observar en nuestros pacientes a partir del año 2011, coincidiendo con la introducción de zolendronato en nuestro hospital.

FRACTURAS

No hemos encontrado diferencias significativas entre grupos en cuanto a la edad de inicio de las fracturas óseas.

Los pacientes con codón de parada presentaron fracturas en huesos largos de pequeño tamaño (clavícula, falanges de pies y manos), hecho no observado en el grupo sin codón de parada.

El mayor número de fracturas pre tratamiento fue observado en el grupo *COL1A2*, no observando diferencias entre el grupo *COL1A1* con y sin codón de parada. Esta ausencia de diferencias probablemente guarde relación con el hecho de que aquellos pacientes con formas más graves de la enfermedad (mutaciones helicoidales) comienzan a recibir tratamiento de manera más precoz, reduciéndose así el ratio de fracturas sufridas por los pacientes.

En el momento del alta el mayor número de fracturas fue nuevamente observado en el grupo *COL1A2*.

5.2.- METABOLISMO FOSFOCÁLCICO

Los efectos positivos de los BF sobre la masa ósea y la geometría vertebral están bien establecidos, sin embargo los datos referentes a la disminución del número de fracturas son contradictorios.

En nuestra experiencia clínica, la mejoría de la masa ósea se acompaña de una desaparición del dolor óseo que sufren estos pacientes, este hecho condiciona que la

actividad física se incrementa y el mecanismo de fractura pasa de espontáneo a post traumático.

Sin embargo una reciente revisión efectuada por la Cochrane¹⁵⁸ parece indicar que los datos a favor de que la terapia con BF produzca una mejoría del dolor óseo, el crecimiento y la movilidad, no terminan de ser concluyentes.

RESULTADOS PRE TRATAMIENTO

Como era esperable, los niveles séricos de calcio total, calcio iónico, fósforo y PTH se encontraron dentro de los límites normales en la gran mayoría de los pacientes, e independientemente del tipo de alteración genética que portasen.

A diferencia de lo observado por otros estudios¹⁵⁹⁻¹⁶¹ no observamos elevación en las determinaciones pre tratamiento de excreción urinaria de calcio; los valores medios del cociente urinario Ca/ Cr siempre se encontraron dentro de los rangos de normalidad en los 3 grupos analizados.

Algunos autores postulan que la elevación del cociente urinario Ca/ Cr guarda relación con la pérdida de masa muscular asociada a las formas graves de OI¹⁶²; en nuestra serie los valores medios pre tratamiento más elevados se observaron en el grupo *COLIA2* (media: 175,95 mg/g), estando aun así por debajo del límite inferior de la normalidad.

BETA CROSSLAPS

La determinación de β -CTX representa una valiosa herramienta para valorar la resorción ósea, sin embargo no se dispone de valores de normalidad estandarizados para la edad pediátrica, y son escasos los estudios realizados al respecto.

A partir de los datos obtenidos del estudio multicéntrico a nivel Europeo HELENA-CSS¹⁶³, Gracia-Marco y colaboradores¹⁶⁴ publican en 2010 un estudio descriptivo de la evolución de la masa ósea y los biomarcadores de resorción ósea en población adolescente sana ajustados a sexo y estadio de Tanner. Tanto los hombres como las mujeres con estadio de Tanner V presentaron un descenso significativo de los valores séricos de β -CTX en comparación con los de estadio Tanner IV. Estratificando por rangos de edad, en el grupo de adolescentes de 12,5 a 14,9 años, los rangos de normalidad que encontraron se aproximaron a los siguientes valores: hombres 2,4-0,9 μ g/L y mujeres 2,3-0,6 μ g/L.

En nuestro trabajo la edad media de los pacientes en el momento de recibir su primer ciclo en 2010 fue 11,7 años (rango: 5,6-17,2). Las determinaciones medias pre tratamiento más bajas (0,6 ng/L) se observaron en el grupo *COLIA1* sin codón de parada, y las más altas (1,16 ng/L) al del grupo *COLIA2*.

En todos los grupos hemos observado un descenso en los valores séricos de β Crosslaps tras la administración del ciclo con pamidronato, encontrando diferencias

estadísticamente significativas al comparar el descenso de β -CTX observado en el grupo de pacientes portadores de mutación en *COL1A2*, con los pacientes del grupo *COL1A1* sin codón de parada.

CALCEMIA POST TRATAMIENTO

Tras analizar los niveles medios post pamidronato de calcio iónico, hemos podido observar cómo se producía un descenso carente de relevancia clínica en todos los grupos (en ningún caso se ha registrado hipocalcemia asociada a manifestaciones clínicas). El valor estimado de cambio en sus niveles entre los 3 grupos (*COL1A1* sin codón de parada, *COL1A1* con codón de parada y mutación en *COL1A2*) no mostró diferencias significativas.

Plotkin y colaboradores¹⁶² estudiaron los efectos de la terapia con pamidronato en una muestra de 165 pacientes con OI tipos I, III y IV, y observaron cómo las fluctuaciones en los niveles pre y post tratamiento de calcio eran menos marcadas a medida que aumentaba el número de ciclos recibidos.

CALCIURIA Y FOSFATURIA POST TRATAMIENTO

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos en los cambios observados pre y post tratamiento de los cocientes urinarios de Ca/Cr y P/Cr. La ausencia de diferencias se justifica por el hecho de que en nuestro protocolo de administración de pamidronato se incluye la administración de calcio (500-1000 mg según la edad del paciente), junto a 400 UI de vitamina D durante los 2 días que dura cada ciclo de tratamiento. Tras finalizar el ciclo solo se pautó administración continuada de calcio a aquellos que presentaron una elevación mantenida de PTH o bajada de los niveles de calcemia.

Este es, en nuestro conocimiento, el primer estudio acerca de la correlación genotipo fenotipo realizado en pacientes con OI en edad pediátrica en nuestro país. Es así mismo el primero que incluye la valoración de la TF.

Hemos analizado tanto los aspectos clínicos como la respuesta bioquímica al tratamiento de pacientes portadores de mutación en uno de los dos genes que con mayor frecuencia se asocian a esta enfermedad.

La muestra es reducida puesto que uno de los objetivos principales fue analizar la TF de nuestros pacientes. Sin embargo las conclusiones extraídas del estudio del metabolismo fosfocálcico son válidas al haber sido analizados múltiples ciclos dentro de cada paciente.

De entre todos los parámetros analizados el β -CTX se ha mostrado como un buen marcador del freno en la resorción ósea producida tras la administración de pamidronato; sin embargo la falta de valores de normalidad dificulta su aplicabilidad a la hora de correlacionar la potencia antirresortiva de los BF con la magnitud del cambio observado. Serían necesarios más estudios dirigidos a estandarizar los valores de

normalidad de este marcador, especialmente en niños prepuberales y recién nacidos, para poder plantearse la magnitud de su descenso como herramienta para ajustar la dosis administrada en estos pacientes en busca de obtener la mínima dosis eficaz.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

- Con independencia del tipo de mutación, el β -CTX es un marcador eficaz del efecto antirresortivo de los BF.
- Los cambios observados en el resto de marcadores de metabolismo fosfocálcico tras la administración de pamidronato, no mostraron diferencias significativas en función del tipo de mutación que padecían los pacientes, independientemente de si esta se asoció a un fenotipo de mayor o menor severidad.
- Respecto a las asociaciones entre el genotipo y algunas manifestaciones fenotípicas, hemos observado relación significativa entre:
 - Grupo *COL1A1* sin codón de parada: facies triangular
 - Grupo *COL1A1* con codón de parada: escleras azules
 - Grupo *COL1A2*: escleras blancas
- Existe asociación entre la TF alcanzada por nuestros pacientes y su tipo de mutación, encontrando significación estadística entre los portadores de mutaciones helicoidales en *COL1A2* y *COL1A1*, así como entre los grupos *COL1A1* sin y con codón de parada.

CAPÍTULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trejo P, Rauch F. Osteogenesis imperfecta in children and adolescents-new developments in diagnosis and treatment. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2016 Dec;27(12):3427–37.
2. Monti E, Mottes M, Fraschini P, Brunelli P, Forlino A, Venturi G, et al. Current and emerging treatments for the management of osteogenesis imperfecta. *Ther Clin Risk Manag*. 2010 Sep 7;6:367–81.
3. Lowenstein EJ. Osteogenesis imperfecta in a 3,000-year-old mummy. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2009 May;25(5):515–6.
4. Muys WW. *Musculorum Artificiosa Fabrica*. Amsterdam P.Bonk et C de Becker. 1751. 598 p.
5. Peltier LF. The classic: congenital osteomalacia. Olaus Jacob Ekman. *Clin Orthop*. 1981 Sep;(159):3–5.
6. Baljet B. Aspects of the history of osteogenesis imperfecta (Vrolik's syndrome). *Ann Anat Anat Anz Off Organ Anat Ges*. 2002 Jan;184(1):1–7.
7. Lobstein JF. De la fragilité des os, ou de l'osteopsathyrose In: *Traité de l'Anatomie Pathologique*. 1833; 2:204-12.
8. Baljet B. Willem Vrolik as a teratologist. *Ned Tijdschr Geneesk*. 1984 Aug 11;128(32):1530–4.
9. Looser E. Zur Kenntnis der Osteogenesis Imperfecta Congenita et Tarda (sogenannte idiopathische Osteopsathyrosis). *Mittlg Grenzgeb Med Chir*. 1906;(15):161–207.
10. Seedorf KS. Osteogenesis imperfecta. A study of clinical features and heredity based on 55 Danish families comprising 18 affected members. Copenhagen, Denmark: Universitetsforlaget Aarhus; 1949.
11. Sillence DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*. 1979 Apr;16(2):101–16.
12. Teitelbaum SL, Kraft WJ, Lang R, Avioli LV. Bone collagen aggregation abnormalities in osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Res*. 1974;17(1):75–9.
13. Sykes B, Francis MJ, Smith R. Altered relation of two collagen types in osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*. 1977 May 26;296(21):1200–3.
14. Chu ML, Williams CJ, Pepe G, Hirsch JL, Prockop DJ, Ramirez F. Internal deletion in a collagen gene in a perinatal lethal form of osteogenesis imperfecta. *Nature*. 1983 Jul 7;304(5921):78–80.
15. Barnes AM, Chang W, Morello R, Cabral WA, Weis M, Eyre DR, et al. Deficiency of cartilage-associated protein in recessive lethal osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*. 2006 Dec 28;355(26):2757–64.

16. van Dijk FS, Byers PH, Dalgleish R, Malfait F, Maugeri A, Rohrbach M, et al. EMQN best practice guidelines for the laboratory diagnosis of osteogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2012 Jan;20(1):11–9.
17. Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol*. 2002 Jun;65(2):109–26.
18. Sato K, Yomogida K, Wada T, Yorihuzi T, Nishimune Y, Hosokawa N, et al. Type XXVI collagen, a new member of the collagen family, is specifically expressed in the testis and ovary. *J Biol Chem*. 2002 Oct 4;277(40):37678–84.
19. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003 Nov 28;55(12):1531–46.
20. Weis MA, Hudson DM, Kim L, Scott M, Wu J-J, Eyre DR. Location of 3-hydroxyproline residues in collagen types I, II, III, and V/XI implies a role in fibril supramolecular assembly. *J Biol Chem*. 2010 Jan 22;285(4):2580–90.
21. Ishikawa Y, Wirz J, Vranka JA, Nagata K, Bächinger HP. Biochemical characterization of the prolyl 3-hydroxylase 1.cartilage-associated protein.cyclophilin B complex. *J Biol Chem*. 2009 Jun 26;284(26):17641–7.
22. Ishikawa Y, Bächinger HP. A molecular ensemble in the rER for procollagen maturation. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Nov;1833(11):2479–91.
23. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci*. 2005 Apr 1;118(Pt 7):1341–53.
24. Christiansen HE, Schwarze U, Pyott SM, AlSwaied A, Al Balwi M, Alrasheed S, et al. Homozygosity for a missense mutation in SERPINH1, which encodes the collagen chaperone protein HSP47, results in severe recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2010 Mar 12;86(3):389–98.
25. Steiglitiz BM, Keene DR, Greenspan DS. PCOLCE2 encodes a functional procollagen C-proteinase enhancer (PCPE2) that is a collagen-binding protein differing in distribution of expression and post-translational modification from the previously described PCPE1. *J Biol Chem*. 2002 Dec 20;277(51):49820–30.
26. Moali C, Font B, Ruggiero F, Eichenberger D, Rousselle P, François V, et al. Substrate-specific modulation of a multisubstrate proteinase. C-terminal processing of fibrillar procollagens is the only BMP-1-dependent activity to be enhanced by PCPE-1. *J Biol Chem*. 2005 Jun 24;280(25):24188–94.
27. Trackman PC. Enzymatic and non-enzymatic functions of the lysyl oxidase family in bone. *Matrix Biol J Int Soc Matrix Biol*. 2016 Jul;52–54:7–18.
28. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol*. 2008 Oct;19(5):444–51.

29. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys*. 2008 May 15;473(2):201–9.
30. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008 May 15;473(2):139–46.
31. O'Brien CA. Control of RANKL Gene Expression. *Bone*. 2010 Apr;46(4):911–9.
32. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev*. 2008 Apr;29(2):155–92.
33. Zhao Q, Wang X, Liu Y, He A, Jia R. NFATc1: functions in osteoclasts. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010 May;42(5):576–9.
34. Silver IA, Murrills RJ, Etherington DJ. Microelectrode studies on the acid microenvironment beneath adherent macrophages and osteoclasts. *Exp Cell Res*. 1988 Apr;175(2):266–76.
35. Ross FP, Christiano AM. Nothing but skin and bone. *J Clin Invest*. 2006 May;116(5):1140–9.
36. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover part II: clinical applications in the management of osteoporosis. *Clin Biochem Rev*. 2006 Aug;27(3):123–38.
37. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with Iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1987 Oct;2(5):427–36.
38. Hassager C, Fabbri-Mabelli G, Christiansen C. The effect of the menopause and hormone replacement therapy on serum carboxyterminal propeptide of type I collagen. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 1993 Jan;3(1):50–2.
39. Peris P, Alvarez L, Monegal A, Guañabens N, Durán M, Pons F, et al. Biochemical markers of bone turnover after surgical menopause and hormone replacement therapy. *Bone*. 1999 Sep;25(3):349–53.
40. Fujimoto D, Suzuki M, Uchiyama A, Miyamoto S, Inoue T. Analysis of pyridinoline, a cross-linking compound of collagen fibers, in human urine. *J Biochem (Tokyo)*. 1983 Oct;94(4):1133–6.
41. Martin E, Shapiro JR. Osteogenesis imperfecta: epidemiology and pathophysiology. *Curr Osteoporos Rep*. 2007 Sep;5(3):91–7.
42. Cabral WA, Barnes AM, Adeyemo A, Cushing K, Chitayat D, Porter FD, et al. A Founder Mutation in LEPRE1 Carried by 1.5% of West Africans and 0.4% of African Americans Causes Lethal Recessive Osteogenesis Imperfecta. *Genet Med*. 2012 May;14(5):543–51.

43. Steiner RD, Adsit J, Basel D. COL1A1/2-Related Osteogenesis Imperfecta. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. GeneReviews(®) [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2017 May 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1295/>
44. Lindahl K, Åström E, Rubin C-J, Grigelioniene G, Malmgren B, Ljunggren Ö, et al. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2015 Aug;23(8):1042–50.
45. Pronostico e incidencia de Osteogénesis imperfecta [Internet]. [cited 2017 May 1]. Available from: http://www.ahuce.org/Osteogenesis_imperfecta/Diagnostico_y_Manifestaciones_de_la_Osteogenesis/Pronostico_e_incidencia_de_Osteogenesis_imperfecta.aspx
46. Wynne-Davies R, Gormley J. Clinical and genetic patterns in osteogenesis imperfecta. *Clin Orthop*. 1981 Sep;(159):26–35.
47. Donnelly DE, McConnell V, Paterson A, Morrison PJ. The prevalence of thanatophoric dysplasia and lethal osteogenesis imperfecta type II in Northern Ireland - a complete population study. *Ulster Med J*. 2010 Sep;79(3):114–8.
48. Tan KL, Tock EP. Osteogenesis imperfecta congenita. *Aust Paediatr J*. 1971 Mar;7(1):49–53.
49. Robert JM, Gremeau JL, Notter A, Guilhot J. [Hereditary bone fragility]. *Lyon Med*. 1968 Mar 17;219(11):881–982.
50. Navani SV, Sarzin B. Intra-uterine osteogenesis imperfecta. Review of the literature and a report of the radiological and necropsy findings in two cases. *Br J Radiol*. 1967 Jun;40(474):449–52.
51. OIFE - Estadísticas [Internet]. [cited 2017 May 1]. Available from: <https://oife.org/es/documentos/estadisticas>
52. Sillence DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*. 1979 Apr;16(2):101–16.
53. Sillence DO, Barlow KK, Garber AP, Hall JG, Rimoin DL. Osteogenesis imperfecta type II delineation of the phenotype with reference to genetic heterogeneity. *Am J Med Genet*. 1984 Feb;17(2):407–23.
54. Wallis GA, Sykes B, Byers PH, Mathew CG, Viljoen D, Beighton P. Osteogenesis imperfecta type III: mutations in the type I collagen structural genes, COL1A1 and COL1A2, are not necessarily responsible. *J Med Genet*. 1993 Jun;30(6):492–6.
55. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Lancet Lond Engl*. 2004 Apr 24;363(9418):1377–85.

56. Glorieux FH, Rauch F, Plotkin H, Ward L, Travers R, Roughley P, et al. Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2000 Sep;15(9):1650–8.
57. Glorieux FH, Ward LM, Rauch F, Lalic L, Roughley PJ, Travers R. Osteogenesis imperfecta type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2002 Jan;17(1):30–8.
58. Morello R, Bertin TK, Chen Y, Hicks J, Tonachini L, Monticone M, et al. CRTAP is required for prolyl 3- hydroxylation and mutations cause recessive osteogenesis imperfecta. *Cell*. 2006 Oct 20;127(2):291–304.
59. Cabral WA, Chang W, Barnes AM, Weis M, Scott MA, Leikin S, et al. Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe osteogenesis imperfecta. *Nat Genet*. 2007 Mar;39(3):359–65.
60. van Dijk FS, Nesbitt IM, Zwikstra EH, Nikkels PGJ, Piersma SR, Frattantoni SA, et al. PPIB Mutations Cause Severe Osteogenesis Imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2009 Oct 9;85(4):521–7.
61. Alanay Y, Avaygan H, Camacho N, Utine GE, Boduroglu K, Aktas D, et al. Mutations in the gene encoding the RER protein FKBP65 cause autosomal-recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2010 Apr 9;86(4):551–9.
62. Lapunzina P, Aglan M, Temtamy S, Caparrós-Martín JA, Valencia M, Letón R, et al. Identification of a frameshift mutation in Osterix in a patient with recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2010 Jul 9;87(1):110–4.
63. Martínez-Glez V, Valencia M, Caparrós-Martín JA, Aglan M, Temtamy S, Tenorio J, et al. Identification of a mutation causing deficient BMP1/mTLD proteolytic activity in autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat*. 2012 Feb;33(2):343–50.
64. Asharani PV, Keupp K, Semler O, Wang W, Li Y, Thiele H, et al. Attenuated BMP1 function compromises osteogenesis, leading to bone fragility in humans and zebrafish. *Am J Hum Genet*. 2012 Apr 6;90(4):661–74.
65. Shaheen R, Alazami AM, Alshammari MJ, Faqeih E, Alhashmi N, Mousa N, et al. Study of autosomal recessive osteogenesis imperfecta in Arabia reveals a novel locus defined by TMEM38B mutation. *J Med Genet*. 2012 Oct;49(10):630–5.
66. Fahiminiya S, Majewski J, Mort J, Moffatt P, Glorieux FH, Rauch F. Mutations in WNT1 are a cause of osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*. 2013 May;50(5):345–8.
67. Keupp K, Beleggia F, Kayserili H, Barnes AM, Steiner M, Semler O, et al. Mutations in WNT1 cause different forms of bone fragility. *Am J Hum Genet*. 2013 Apr 4;92(4):565–74.
68. Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, Marini JC. New Perspectives on Osteogenesis Imperfecta. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Jun 14;7(9):540–57.

69. Valadares ER, Carneiro TB, Santos PM, Oliveira AC, Zabel B. What is new in genetics and osteogenesis imperfecta classification? *J Pediatr (Rio J)*. 2014 Dec;90(6):536–41.
70. Van Dijk FS, Sillence DO. Osteogenesis imperfecta: clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. *Am J Med Genet A*. 2014 Jun;164A(6):1470–81.
71. Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Lachman R, LeMerrer M, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision. *Am J Med Genet A*. 2011 May;155A(5):943–68.
72. Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfecta. *Lancet Lond Engl*. 2016 Apr 16;387(10028):1657–71.
73. Lindahl K, Langdahl B, Ljunggren Ö, Kindmark A. Treatment of osteogenesis imperfecta in adults. *Eur J Endocrinol*. 2014 Aug;171(2):R79-90.
74. Chen C-P, Lin S-P, Su Y-N, Chern S-R, Su J-W, Wang W. Prenatal diagnosis of recurrent autosomal dominant osteogenesis imperfecta associated with unaffected parents and paternal gonadal mosaicism. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2013 Mar;52(1):106–9.
75. Frederiksen AL, Duno M, Johnsen IBG, Nielsen MF, Krøigård AB. Asymptomatic parental mosaicism for osteogenesis imperfecta associated with a new splice site mutation in COL1A2. *Clin Case Rep*. 2016 Oct;4(10):972–8.
76. Cabral WA, Marini JC. High proportion of mutant osteoblasts is compatible with normal skeletal function in mosaic carriers of osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2004 Apr;74(4):752–60.
77. Marini JC, Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, San Antonio JD, Milgrom S, et al. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum Mutat*. 2007 Mar;28(3):209–21.
78. van Dijk FS, Huizer M, Kariminejad A, Marcelis CL, Plomp AS, Terhal PA, et al. Complete COL1A1 allele deletions in osteogenesis imperfecta. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2010 Nov;12(11):736–41.
79. Kuurila K, Kaitila I, Johansson R, Grénman R. Hearing loss in Finnish adults with osteogenesis imperfecta: a nationwide survey. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002 Oct;111(10):939–46.
80. Levin LS, Salinas CF, Jorgenson RJ. Classification of osteogenesis imperfecta by dental characteristics. *Lancet Lond Engl*. 1978 Feb 11;1(8059):332–3.
81. Engelbert RH, van der Graaf Y, van Empelen R, Beemer FA, Helders PJ. Osteogenesis imperfecta in childhood: impairment and disability. *Pediatrics*. 1997 Feb;99(2):E3.

82. Hortop J, Tsipouras P, Hanley JA, Maron BJ, Shapiro JR. Cardiovascular involvement in osteogenesis imperfecta. *Circulation*. 1986 Jan;73(1):54–61.
83. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews*(®) [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2017 Apr 2]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
84. Sillence DO, Barlow KK, Garber AP, Hall JG, Rimoin DL. Osteogenesis imperfecta type II delineation of the phenotype with reference to genetic heterogeneity. *Am J Med Genet*. 1984 Feb;17(2):407–23.
85. Bullough PG, Davidson DD, Lorenzo JC. The morbid anatomy of the skeleton in osteogenesis imperfecta. *Clin Orthop*. 1981 Sep;(159):42–57.
86. Obafemi AA, Bulas DI, Troendle J, Marini JC. Popcorn calcification in osteogenesis imperfecta: incidence, progression, and molecular correlation. *Am J Med Genet A*. 2008 Nov 1;146A(21):2725–32.
87. Brizola E, McCarthy E, Shapiro JR. Bulbous epiphysis and popcorn calcification as related to growth plate differentiation in osteogenesis imperfecta. *Clin Cases Miner Bone Metab Off J Ital Soc Osteoporos Miner Metab Skelet Dis*. 2015 Aug;12(2):202–6.
88. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Lancet Lond Engl*. 2004 Apr 24;363(9418):1377–85.
89. Cho T-J, Lee K-E, Lee S-K, Song SJ, Kim KJ, Jeon D, et al. A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V. *Am J Hum Genet*. 2012 Aug 10;91(2):343–8.
90. Semler O, Garbes L, Keupp K, Swan D, Zimmermann K, Becker J, et al. A mutation in the 5'-UTR of IFITM5 creates an in-frame start codon and causes autosomal-dominant osteogenesis imperfecta type V with hyperplastic callus. *Am J Hum Genet*. 2012 Aug 10;91(2):349–57.
91. Shapiro JR, Lietman C, Grover M, Lu JT, Nagamani SC, Dawson BC, et al. Phenotypic variability of osteogenesis imperfecta type V caused by an IFITM5 mutation. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2013 Jul;28(7):1523–30.
92. Cheung MS, Glorieux FH, Rauch F. Natural history of hyperplastic callus formation in osteogenesis imperfecta type V. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2007 Aug;22(8):1181–6.
93. Becker J, Semler O, Gilissen C, Li Y, Bolz HJ, Giunta C, et al. Exome sequencing identifies truncating mutations in human SERPINF1 in autosomal-recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2011 Mar 11;88(3):362–71.
94. Quan GMY, Ojaimi J, Li Y, Kartsogiannis V, Zhou H, Choong PFM. Localization of pigment epithelium-derived factor in growing mouse bone. *Calcif Tissue Int*. 2005 Feb;76(2):146–53.

95. Meyer C, Notari L, Becerra SP. Mapping the type I collagen-binding site on pigment epithelium-derived factor. Implications for its antiangiogenic activity. *J Biol Chem*. 2002 Nov 22;277(47):45400–7.
96. Akiyama T, Dass CR, Shinoda Y, Kawano H, Tanaka S, Choong PFM. PEDF regulates osteoclasts via osteoprotegerin and RANKL. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Jan 1;391(1):789–94.
97. Venturi G, Gandini A, Monti E, Dalle Carbonare L, Corradi M, Vincenzi M, et al. Lack of expression of SERPINF1, the gene coding for pigment epithelium-derived factor, causes progressively deforming osteogenesis imperfecta with normal type I collagen. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2012 Mar;27(3):723–8.
98. Takenaka K, Yamagishi S-I, Jinnouchi Y, Nakamura K, Matsui T, Imaizumi T. Pigment epithelium-derived factor (PEDF)-induced apoptosis and inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in MG63 human osteosarcoma cells. *Life Sci*. 2005 Nov 4;77(25):3231–41.
99. Ward LM, Rauch F, Travers R, Chabot G, Azouz EM, Lalic L, et al. Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease. *Bone*. 2002 Jul;31(1):12–8.
100. Marini JC, Cabral WA, Barnes AM. Null mutations in LEPRE1 and CRTAP cause severe recessive osteogenesis imperfecta. *Cell Tissue Res*. 2010 Jan;339(1):59–70.
101. Price ER, Zydowsky LD, Jin MJ, Baker CH, McKeon FD, Walsh CT. Human cyclophilin B: a second cyclophilin gene encodes a peptidyl-prolyl isomerase with a signal sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Mar 1;88(5):1903–7.
102. Volodarsky M, Markus B, Cohen I, Staretz-Chacham O, Flusser H, Landau D, et al. A deletion mutation in TMEM38B associated with autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat*. 2013 Apr;34(4):582–6.
103. Pyott SM, Tran TT, Leistriz DF, Pepin MG, Mendelsohn NJ, Temme RT, et al. WNT1 mutations in families affected by moderately severe and progressive recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2013 Apr 4;92(4):590–7.
104. Symoens S, Malfait F, D'hondt S, Callewaert B, Dheedene A, Steyaert W, et al. Deficiency for the ER-stress transducer OASIS causes severe recessive osteogenesis imperfecta in humans. *Orphanet J Rare Dis*. 2013 Sep 30;8:154.
105. Mendoza-Londono R, Fahiminiya S, Majewski J, Care4Rare Canada Consortium, Tétreault M, Nadaf J, et al. Recessive osteogenesis imperfecta caused by missense mutations in SPARC. *Am J Hum Genet*. 2015 Jun 4;96(6):979–85.
106. Gistelink C, Witten PE, Huyseune A, Symoens S, Malfait F, Larionova D, et al. Loss of Type I Collagen Telopeptide Lysyl Hydroxylation Causes Musculoskeletal Abnormalities in a Zebrafish Model of Bruck Syndrome. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2016 Nov;31(11):1930–42.

107. Ruck J, Dahan-Oliel N, Montpetit K, Rauch F, Fassier F. Fassier-Duval femoral rodding in children with osteogenesis imperfecta receiving bisphosphonates: functional outcomes at one year. *J Child Orthop*. 2011 Jun;5(3):217–24.
108. Lee K, Park MS, Yoo WJ, Chung CY, Choi IH, Cho T-J. Proximal migration of femoral telescopic rod in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop*. 2015 Mar;35(2):178–84.
109. Krishnan H, Patel NK, Skinner JA, Muirhead-Allwood SK, Briggs TW, Carrington RW, et al. Primary and revision total hip arthroplasty in osteogenesis imperfecta. *Hip Int J Clin Exp Res Hip Pathol Ther*. 2013 Jun;23(3):303–9.
110. Topouchian V, Finidori G, Glorion C, Padovani JP, Pouliquen JC. [Posterior spinal fusion for kypho-scoliosis associated with osteogenesis imperfecta: long-term results]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*. 2004 Oct;90(6):525–32.
111. Janus GJ, Finidori G, Engelbert RH, Pouliquen M, Pruijs JE. Operative treatment of severe scoliosis in osteogenesis imperfecta: results of 20 patients after halo traction and posterior spondylodesis with instrumentation. *Eur Spine J Off Publ Eur Spine Soc Eur Spinal Deform Soc Eur Sect Cerv Spine Res Soc*. 2000 Dec;9(6):486–91.
112. Gutiérrez Díez MP, Molina Gutiérrez MA, Prieto Tato L, Parra García JI, Bueno Sánchez AM. Osteogénesis Imperfecta: Nuevas Perspectivas. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2013; 4 (Supl).
113. Baron R, Gertner JM, Lang R, Vignery A. Increased bone turnover with decreased bone formation by osteoblasts in children with osteogenesis imperfecta tarda. *Pediatr Res*. 1983 Mar;17(3):204–7.
114. Fleisch H, Russell RG, Straumann F. Effect of pyrophosphate on hydroxyapatite and its implications in calcium homeostasis. *Nature*. 1966 Nov 26;212(5065):901–3.
115. Fleish H, Neuman WF. Mechanisms of calcification: role of collagen, polyphosphates, and phosphatase. *Am J Physiol*. 1961 Jun;200:1296–300.
116. Fleisch H, Bisaz S. Isolation from urine of pyrophosphate, a calcification inhibitor. *Am J Physiol*. 1962 Oct;203:671–5.
117. Schibler D, Russell RG, Fleisch H. Inhibition by pyrophosphate and polyphosphate of aortic calcification induced by vitamin D3 in rats. *Clin Sci*. 1968 Oct;35(2):363–72.
118. Fleisch HA, Russell RG, Bisaz S, Mühlbauer RC, Williams DA. The inhibitory effect of phosphonates on the formation of calcium phosphate crystals in vitro and on aortic and kidney calcification in vivo. *Eur J Clin Invest*. 1970 Mar;1(1):12–8.
119. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest*. 1999 Nov;104(10):1363–74.

120. Plotkin LI, Aguirre JI, Kousteni S, Manolagas SC, Bellido T. Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of extracellular signal-regulated kinase activation. *J Biol Chem*. 2005 Feb 25;280(8):7317–25.
121. Devogelaer JP, Malghem J, Maldague B, Nagant de Deuxchaisnes C. Radiological manifestations of bisphosphonate treatment with APD in a child suffering from osteogenesis imperfecta. *Skeletal Radiol*. 1987;16(5):360–3.
122. Rauch F, Travers R, Glorieux FH. Pamidronate in children with osteogenesis imperfecta: histomorphometric effects of long-term therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Feb;91(2):511–6.
123. Munns CF, Rajab MH, Hong J, Briody J, Högl W, McQuade M, et al. Acute phase response and mineral status following low dose intravenous zoledronic acid in children. *Bone*. 2007 Sep;41(3):366–70.
124. Högl W, Yap F, Little D, Ambler G, McQuade M, Cowell CT. Short-term safety assessment in the use of intravenous zoledronic acid in children. *J Pediatr*. 2004 Nov;145(5):701–4.
125. Barros ER, Saraiva GL, de Oliveira TP, Lazaretti-Castro M. Safety and efficacy of a 1-year treatment with zoledronic acid compared with pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2012;25(5–6):485–91.
126. Brown JP, Morin S, Leslie W, Papaioannou A, Cheung AM, Davison KS, et al. Bisphosphonates for treatment of osteoporosis. *Can Fam Physician*. 2014 Apr;60(4):324–33.
127. Semler O, Netzer C, Hoyer-Kuhn H, Becker J, Eysel P, Schoenau E. First use of the RANKL antibody denosumab in osteogenesis imperfecta type VI. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2012 Sep;12(3):183–8.
128. Hoyer-Kuhn H, Franklin J, Allo G, Kron M, Netzer C, Eysel P, et al. Safety and efficacy of denosumab in children with osteogenesis imperfecta—a first prospective trial. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2016 Mar;16(1):24–32.
129. Garber K. Two pioneering osteoporosis drugs finally approach approval. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 Jun 30;15(7):445–6.
130. Poole KES, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Löwik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2005 Nov;19(13):1842–4.
131. Li X, Ominsky MS, Warmington KS, Morony S, Gong J, Cao J, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2009 Apr;24(4):578–88.

132. Ominsky MS, Vlasseros F, Jolette J, Smith SY, Stouch B, Doellgast G, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density, and bone strength. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2010 May;25(5):948–59.
133. Recker RR, Benson CT, Matsumoto T, Bolognese MA, Robins DA, Alam J, et al. A randomized, double-blind phase 2 clinical trial of blosozumab, a sclerostin antibody, in postmenopausal women with low bone mineral density. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2015 Feb;30(2):216–24.
134. McCollm J, Hu L, Womack T, Tang CC, Chiang AY. Single- and multiple-dose randomized studies of blosozumab, a monoclonal antibody against sclerostin, in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2014 Apr;29(4):935–43.
135. Yadav VK, Balaji S, Suresh PS, Liu XS, Lu X, Li Z, et al. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. *Nat Med*. 2010 Mar;16(3):308–12.
136. Carrascosa Lezcano A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández D, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejó A, Copil Copil A, et al. [Spanish cross-sectional growth study 2008. Part I: weight and height values in newborns of 26-42 weeks of gestational age]. *An Pediatr Barc Spain* 2003. 2008 Jun;68(6):544–51.
137. Carrascosa Lezcano A, Fernández García JM, Fernández Ramos C, Ferrández Longás A, López-Siguero JP, Sánchez González E, et al. [Spanish cross-sectional growth study 2008. Part II. Height, weight and body mass index values from birth to adulthood]. *An Pediatr Barc Spain* 2003. 2008 Jun;68(6):552–69.
138. Rauch F, Lalic L, Roughley P, Glorieux FH. Relationship between genotype and skeletal phenotype in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2010 Jun;25(6):1367–74.
139. Ben Amor IM, Roughley P, Glorieux FH, Rauch F. Skeletal clinical characteristics of osteogenesis imperfecta caused by haploinsufficiency mutations in COL1A1. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2013 Sep;28(9):2001–7.
140. Santili C, Akkari M, Waisberg G, Bastos Júnior JOC, Ferreira WM. [Clinical, radiographic and laboratory evaluation of patients with osteogenesis imperfecta]. *Rev Assoc Medica Bras* 1992. 2005 Aug;51(4):214–20.
141. Shields ED, Bixler D, el-Kafrawy AM. A proposed classification for heritable human dentine defects with a description of a new entity. *Arch Oral Biol*. 1973 Apr;18(4):543–53.
142. Ben Amor IM, Glorieux FH, Rauch F. Genotype-phenotype correlations in autosomal dominant osteogenesis imperfecta. *J Osteoporos*. 2011;2011:540178.
143. Marini J, Smith SM. Osteogenesis Imperfecta. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A, editors.

SourceEndotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. 2015 Apr 22.

144. Rauch F, Lalic L, Roughley P, Glorieux FH. Genotype-phenotype correlations in nonlethal osteogenesis imperfecta caused by mutations in the helical domain of collagen type I. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2010 Jun; 18(6):642–7.
145. Ashournia H, Johansen FT, Folkestad L, Diederichsen ACP, Brixen K. Heart disease in patients with osteogenesis imperfecta - A systematic review. *Int J Cardiol*. 2015 Oct 1;196:149–57.
146. Al-Senaidi KS, Ullah I, Javad H, Al-Khabori M, Al-Yaarubi S. Echocardiographic Evidence of Early Diastolic Dysfunction in Asymptomatic Children with Osteogenesis Imperfecta. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2015 Nov;15(4):e456-462.
147. Migliaccio S, Barbaro G, Fornari R, Di Lorenzo G, Celli M, Lubrano C, et al. Impairment of diastolic function in adult patients affected by osteogenesis imperfecta clinically asymptomatic for cardiac disease: casualty or causality? *Int J Cardiol*. 2009 Jan 9;131(2):200–3.
148. Swinnen FKR, Coucke PJ, De Paepe AM, Symoens S, Malfait F, Gentile FV, et al. Osteogenesis Imperfecta: the audiological phenotype lacks correlation with the genotype. *Orphanet J Rare Dis*. 2011 Dec 29;6:88.
149. Pillion JP, Vernick D, Shapiro J. Hearing loss in osteogenesis imperfecta: characteristics and treatment considerations. *Genet Res Int*. 2011;2011:983942.
150. Pillion JP, Shapiro J. Audiological findings in osteogenesis imperfecta. *J Am Acad Audiol*. 2008 Sep;19(8):595–601.
151. Sato A, Ouellet J, Muneta T, Glorieux FH, Rauch F. Scoliosis in osteogenesis imperfecta caused by COL1A1/COL1A2 mutations - genotype-phenotype correlations and effect of bisphosphonate treatment. *Bone*. 2016 May;86:53–7.
152. Ibrahim AG, Crockard HA. Basilar impression and osteogenesis imperfecta: a 21-year retrospective review of outcomes in 20 patients. *J Neurosurg Spine*. 2007 Dec;7(6):594–600.
153. Menezes AH. Specific entities affecting the craniocervical region: osteogenesis imperfecta and related osteochondrodysplasias: medical and surgical management of basilar impression. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2008 Oct;24(10):1169–72.
154. Cheung MS, Arponen H, Roughley P, Azouz ME, Glorieux FH, Waltimo-Sirén J, et al. Cranial base abnormalities in osteogenesis imperfecta: phenotypic and genotypic determinants. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2011 Feb;26(2):405–13.
155. Lund AM, Müller J, Skovby F. Anthropometry of patients with osteogenesis imperfecta. *Arch Dis Child*. 1999 Jun;80(6):524–8.

156. Roughley PJ, Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta--clinical and molecular diversity. *Eur Cell Mater*. 2003 Jun 30;5:41–47; discussion 47.
157. Lin H-Y, Chuang C-K, Su Y-N, Chen M-R, Chiu H-C, Niu D-M, et al. Genotype and phenotype analysis of Taiwanese patients with osteogenesis imperfecta. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 Dec 1;10:152.
158. Dwan K, Phillipi CA, Steiner RD, Basel D. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jul 23;(7):CD005088.
159. Brenner RE, Vetter U, Bollen AM, Mörike M, Eyre DR. Bone resorption assessed by immunoassay of urinary cross-linked collagen peptides in patients with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1994 Jul;9(7):993–7.
160. Chines A, Petersen DJ, Schranck FW, Whyte MP. Hypercalciuria in children severely affected with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr*. 1991 Jul;119(1 Pt 1):51–7.
161. Chines A, Boniface A, McAlister W, Whyte M. Hypercalciuria in osteogenesis imperfecta: a follow-up study to assess renal effects. *Bone*. 1995 Mar;16(3):333–9.
162. Rauch F, Plotkin H, Travers R, Zeitlin L, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta types I, III, and IV: effect of pamidronate therapy on bone and mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Mar;88(3):986–92.
163. Moreno LA, De Henauw S, González-Gross M, Kersting M, Molnár D, Gottrand F, et al. Design and implementation of the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence Cross-Sectional Study. *Int J Obes* 2005. 2008 Nov;32 Suppl 5:S4–11.
164. Gracia-Marco L, Vicente-Rodríguez G, Valtueña J, Rey-López JP, Díaz Martínez AE, Mesana MI, et al. Bone mass and bone metabolism markers during adolescence: The HELENA Study. *Horm Res Paediatr*. 2010;74(5):339–50.

CAPÍTULO 8. ANEXOS

8.1.- ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1.1.- Molécula simple de colágeno.....	19
Ilustración 1.2.- Gen <i>COL1A1</i>	22
Ilustración 1.3.- Gen <i>COL1A2</i>	22
Ilustración 1.4.- Hidroxilación de los restos de Pro y Lys en la cadena $\alpha 1$	23
Ilustración 1.5.- Glucosilación de los restos de 5-Hyl.....	24
Ilustración 1.6.- Propéptidos terminales de la molécula de pro-colágeno.....	26
Ilustración 1.7.- Sistema RANK/RANKL.....	28
Ilustración 1.8.- Vías de señalización de RANK.....	29
Ilustración 1.9.- Vía de actuación de RANK/RANKL/OPG/OPG-L.....	30
Ilustración 1.10.- Calcificación en palomita de maíz	50
Ilustración 1.11.- Patrones de lamelación bajo luz polarizada	51
Ilustración 1.12.- Callo hipertrófico	53
Ilustración 1.13.- Corrección de deformidad femoral tras la colocación de clavo intramedular tipo Fassier-Duval	63
Ilustración 1.14.- Estructura básica de los bifosfonatos	65
Ilustración 1.15.- Estructura de los bifosfonatos y su potencia antiresortiva relativa....	66
Ilustración 4.1.- Distribución de los pacientes	79
Ilustración 4.1.- Comparación entre peso medio de RN y las distintas mutaciones.....	91
Ilustración 4.2.- Comparación entre DMO al alta (z-score) y las distintas mutaciones	97
Ilustración 4.3.- Comparación entre TF y las distintas mutaciones	99

8.2.- ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1.- Clasificación de Sillence de la osteogénesis imperfecta (1979)	42
Tabla 1.2.- Clasificación ampliada de la OI	44
Tabla 1.3.- Clasificación de la OI (INCDS)	45
Tabla 3.1.- Protocolo de dilución de Pamidronato	74

Tabla 3.2.- Métodos de laboratorio empleados en el estudio del metabolismo fosfocálcico.....	75
Tabla 4.1- Características clínicas de los padres con OI	81
Tabla 4.2.- Mutaciones a nivel de <i>COL1A1</i> (n=13)	82
Tabla 4.3- Mutaciones a nivel de <i>COL1A2</i> (n=10)	83
Tabla 4.4- Función renal pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en <i>COL1A1</i> (n=13).....	84
Tabla 4.5.- Valores medios de FA pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en <i>COL1A1</i> (n=13)	85
Tabla 4.6.- Valores medios de calcio total, calcio iónico y fósforo en el grupo de pacientes con mutación en <i>COL1A1</i> (n=13).....	86
Tabla 4.7.- Análisis descriptivo de los biomarcadores de resorción ósea pre y post tratamiento en el grupo de pacientes con mutaciones en <i>COL1A1</i> (n= 13)	87
Tabla 4.8.- Valores medios de FA pre tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en <i>COL1A2</i> (n=10)	88
Tabla 4.9.- Análisis descriptivo de los biomarcadores de resorción ósea pre y post tratamiento en el grupo de pacientes con mutación en <i>COL1A2</i> (n=10).....	89
Tabla 4.10.- Relación entre mutación y tipo de OI	90
Tabla 4.11.- Parámetros antropométricos en el momento del nacimiento: peso (PRN) y longitud (LRN)	92
Tabla 4.12.- Deformidades óseas y fracturas prenatales	93
Tabla 4.13.- Descripción de la primera fractura.....	95
Tabla 4.14.- Análisis descriptivo de la TF.....	98

8.3.- LISTA DE ABREVIATURAS

- Ca/Cr : cociente calcio creatinina en orina
- P/Cr: cociente fósforo creatinina en orina
- AC: Antes de Cristo
- AD: autosómica dominante
- AHUCE: Asociación Huesos de Cristal de España
- Ala: Alanina

- α -CTX: α -crosslaps
- AR: autosómico recesiva
- Arg: Arginina
- β -CTX: β -crosslaps
- BF: bifosfonatos
- BMPs: proteínas morfogenéticas relacionadas al hueso
- Ca/Cr : cociente calcio creatinina en orina
- CFU-GM: unidad formadora de colonias de granulocitos macrófagos
- CFU-GM: unidad formadora de colonias de granulocitos macrófagos
- Cr: creatinina
- CRTAP: *cartilage associated protein*
- CyPB: ciclofilina B
- CyPB: ciclofilina B
- Cys: cisteína
- Da: daltons
- DEXA: absorciometría de rayos X de doble energía
- DMO: densidad mineral ósea
- FACIT: *Fibril-associated Collagens with Interrupted Triple Helices*
- FKBP65: Peptidil prolil cis/trans isomerasa
- GH: hormona de crecimiento
- Gly: glicina
- HSP47: proteína del shock caliente 47
- HUG: Hospital Universitario de Getafe
- Hyl: hidroxilisina
- Hyp: hidroxiprolina
- INCDS: *International Nomenclature Group for Constitutional Disorders ICHG of the Skeleton*

- IV: Intravenosa
- Leu: leucina
- LH2: procolágeno lisil hidroxilasa 2
- LOXs: lisil oxidasas
- LRN: longitud de recién nacido
- Lys: lisina
- MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1
- M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos
- M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos
- MULTIPLEXIN: Multiple triple helix and interruptions
- NF- κ B : factor nuclear kappa B
- OCIF: factor de inhibición de la osteoclastogénesis
- OI: osteogénesis imperfecta
- OIFE: *Osteogenesis Imperfecta Federation Europe*
- OPG: osteoprotegerina
- P: fósforo
- P/Cr: cociente fósforo creatinina en orina
- P3H1: prolina 3-hidroxilasa 1
- PC: perímetro craneal
- PEDF: factor pigmentario derivado del epitelio
- PEDF: factor pigmentario derivado del epitelio
- Phe: fenilalanina
- PINP: propérido amino terminal
- Pm: peso molecular
- PPi: anión pirofosfato
- PRN: peso de recién nacido
- Pro: prolina

- PTHi: PTH intacta
- RANK: receptor activador de factor nuclear kappa B
- RANKL: ligando del receptor activador de factor nuclear kappa B
- RMN: resonancia magnética nuclear
- RN: recién nacido
- SDF: factor derivado de las células estromales
- Ser: serina
- SNC: sistema nervioso central
- SPSS: *Statistical Package of Social Sciences*
- SSF: Suero salino fisiológico 0,9%
- TC: tejido conjuntivo
- TD: talla diana
- TF: talla final
- TFM: talla final media
- TGF- β : factor de crecimiento transformante beta
- TM: talla media
- TRAP: fosfatasa ácida resistente a tartrato
- VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular
- VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular
- VO: vía oral